

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**Neusa Bernardy**

**ESTUDO CINÉTICO DA POLIMERIZAÇÃO EM MINIEMULSÃO  
VISANDO A NANOENCAPSULAÇÃO DA QUERCETINA**

**Florianópolis**  
**2009**

**Neusa Bernardy**

# **ESTUDO CINÉTICO DA POLIMERIZAÇÃO EM MINIEMULSÃO VISANDO A NANOENCAPSULAÇÃO DA QUERCETINA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr. Claudia Sayer

Co-orientador: Prof. Dr. Pedro Henrique Hermes de Araújo

**Florianópolis**

**2009**

# **“ESTUDO CINÉTICO DA POLIMERIZAÇÃO EM MINIEMULSÃO VISANDO A NANOENCAPSULAÇÃO DA QUERCETINA”**

Por

**Neusa Bernardy**

Dissertação de Mestrado julgada para obtenção do título de **Mestre em Engenharia Química**, área de concentração em **Desenvolvimento de Processos Químicos e Biotecnológicos** e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós Graduação Engenharia de Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Claudia Sayer

**Orientador**

---

Prof. Dr. Pedro Henrique Hermes de Araújo

**Co-Orientador**

---

Prof. Dr. Leonel Teixeira Pinto

**Coordenador do Curso**

## **BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Claudia Sayer

---

Prof. Dr. Pedro Henrique Hermes de Araújo

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elenara Lemos Senna

---

Prof. Dr. Agenor Furigo Junior

**Aos Meus Pais Renato e Ilaine**  
**Aos Meus Irmãos Alexandra e Roberto**  
**Aos meus sobrinhos Rafael e Leonardo**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida e pela força proporcionada para suportar a dor de sempre estar distante de pessoas que amo.

Quero agradecer em especial a meus pais e meus irmãos, que deram muita força e me encorajaram, fazendo dos meus sonhos os deles também. Ao meu namorado Douglas, pelo companheirismo, apoio e demonstração de interesse em minhas conquistas. Aos meus sobrinhos que mesmo estando a quilômetros de distância estiveram sempre presentes espiritualmente comigo. Aos meus colegas de trabalho pelo apoio e carinho.

A minha orientadora Claudia Sayer, por todo “apoio, compreensão e ajuda nos momentos difíceis” e pelas idéias que fizeram deste trabalho realidade. Ao meu co-orientador, Pedro Henrique Hermes de Araújo, pelo empenho e dedicação em todos os momentos, em especial a confiança e honestidade que me foi passada por eles.

Ao Programa de Pós-Graduação Engenharia Química – EQA e a todos os professores que contribuíram na minha formação.

Ao Laboratório de Controle de Processos, pela disponibilidade dos recursos físicos e pela oportunidade do desenvolvimento das atividades necessárias para a realização deste trabalho. Aos colegas do LCP e do Grupo de Miniemulsão pela experiência e pela grande ajuda em todas as horas. Valeu Ana por todas as suas dicas, dedicação e troca de experiência, Érika pela ajuda nas reações e Cristiana pela ajuda nas análises.

Ao Laboratório de Farmácia do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Santa Catarina, pela disponibilidade de recursos físicos e pela oportunidade do desenvolvimento das atividades necessárias para a realização deste trabalho.

Ao LCME, Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da UFSC pelas análises de microscopia eletrônica de transmissão.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPQ, pela ajuda financeira.

## RESUMO

Polímeros naturais e sintéticos são amplamente usados no desenvolvimento de sistemas para liberação controlada e direcionada de fármacos e diversas técnicas podem ser utilizadas para produção de nanocápsulas poliméricas. A síntese de nanocápsulas via polimerização em miniemulsão apresenta como vantagem a possibilidade de se obter nanocápsulas em uma única etapa de reação e se baseia nas diferenças de tensão interfacial e do processo de separação de fases durante a polimerização.

Neste trabalho foi realizado um estudo das reações de polimerização em miniemulsão visando a formação de nanocápsulas poliméricas biocompatíveis e avaliando a possibilidade de nanoencapsulação da quercetina, um antioxidante forte com capacidade de reagir com radicais livres. Inicialmente foram comparadas as reações para síntese de nanocápsulas e de nanoesferas poliméricas de poli(metacrilato de metila), respectivamente, com e sem núcleo de Miglyol 812, realizadas a diferentes temperaturas e com diferentes concentrações de iniciador. Foi observado que as reações para síntese de nanocápsulas apresentam velocidades de reação iguais as das reações para formação das nanoesferas, porém o diâmetro médio destas últimas é consideravelmente menor. Além disso, foi verificado que o aumento da temperatura e da concentração de iniciador levam a um aumento da velocidade de reação sem afetar o diâmetro médio e o número de partículas poliméricas, indicando que a formação das partículas poliméricas ocorre predominantemente pelo mecanismo de nucleação das gotas submicrométricas de monômero.

Em seguida foi realizado um estudo comparativo entre as reações de polimerização de metacrilato de metila e de acetato de vinila em miniemulsão usando Miglyol 812 ou óleo de rícino como coestabilizador e como núcleo das nanocápsulas poliméricas biocompatíveis. Foi observado que, apesar da constante cinética de propagação do acetato de vinila ser dez vezes maior que a constante cinética de propagação do metacrilato de metila, as velocidades de reação das reações com acetato de vinila foram muito menores do que as das reações com metacrilato de metila. As reações na presença do óleo de rícino foram mais lentas do que na presença de Miglyol 812 e não resultaram na formação de partículas com a formação preferencial da morfologia de nanocápsulas. As reações com Miglyol 812 chegaram a formar em torno de 75% de partículas com a morfologia de nanocápsulas.

Na etapa seguinte foi estudado o efeito do uso de diferentes tipos de iniciadores: 2,2'-azo-bis-isobutironitrila (solúvel na fase orgânica), persulfato de potássio e o par redox (peróxido de hidrogênio e ácido ascórbico), os dois últimos solúveis na fase aquosa, sobre a morfologia das partículas formadas nas reações de polimerização de metacrilato de metila, usando lecitina como surfatante e miglyol 812 como coestabilizador. Foi observado que a formação preferencial da morfologia de nanocápsulas foi alcançada com os três sistemas de iniciação avaliados.

As reações realizadas com Quercetina apresentaram velocidades de reação inferiores às realizadas com formulações análogas, porém sem Quercetina, indicando que provavelmente a presença da Quercetina inibe e/ou retarda as reações de polimerização e, conseqüentemente, pode estar sendo parcialmente consumida nas reações. Nas reações realizadas com o par de oxi-redução composto por peróxido de hidrogênio e ácido ascórbico na presença de Quercetina foi observado que o incremento da concentração de ácido ascórbico resulta num aumento considerável da velocidade de reação sem afetar outras propriedades como o diâmetro médio, visto que o ácido ascórbico age como um redutor da oxidação da Quercetina. Este resultado é um indicativo da possibilidade de incorporação de Quercetina nas nanocápsulas sintetizadas via polimerização de metacrilato de metila miniemulsão, usando Miglyol 812 como coestabilizador das nanocápsulas e como carreador da Quercetina e o sistema de iniciação via reações de oxi-redução composto por peróxido de hidrogênio e ácido ascórbico peróxido.

## ABSTRACT

Natural and synthetic polymers are widely used in the development of controlled and targeted drug release systems and several techniques might be used for the production of the polymeric nanocapsules. The synthesis of nanocapsules via miniemulsion polymerization shows as advantage the possibility of forming nanocapsules in one single reaction step and is based on the differences of the interfacial tensions and on the phase separation process during the polymerization.

In this work a study of miniemulsion polymerization reactions aiming the formation of biocompatible polymeric nanocapsules was carried out and the possibility of nanoencapsulation of quercetin, a strong antioxidant and radical scavenger, was verified. Initially reactions for the synthesis of poly(methyl methacrylate) nanocapsules and nanospheres, respectively, with and without a core of Miglyol 812, were compared. These reactions were conducted at different temperatures and with different initiator concentrations. It was observed that the reactions for the synthesis of nanocapsules showed the same reaction rates as the reactions for the formation of the nanospheres, but the latter had a substantially lower average diameter. Furthermore, it was verified that the increase of temperature and of initiator concentration enhance the reaction rate without affecting the average particle diameters and numbers, indicating that the formation of polymer particles occurs predominantly by the nucleation of the submicrometric monomer droplets.

In sequence, a comparative study between methyl methacrylate and vinyl acetate miniemulsion polymerization reactions using miglyol 812 or castor oil as costabilizer and as the core of biocompatible polymeric nanocapsules was carried out. It was observed that despite the kinetic propagation constant of vinyl acetate being ten times higher than that of methyl methacrylate, the reaction rates of the vinyl acetate reactions were much smaller than those of methyl methacrylate. Reactions in the presence of castor oil were slower than those with Miglyol 812 and did not result in the preferential formation of particles with the nanocapsule morphology. Reactions with Miglyol 812 resulted in the formation of around 75% of particles with the nanocapsule morphology.

In the following step the effect of different types of initiator: 2,2'-azo-bis-isobutyronitrile (soluble in the organic phase), potassium persulfate and a redox initiation pair (hydrogen



peroxide and ascorbic acid), these last two soluble in the aqueous phase, on the morphology of the nanoparticles formed in methyl methacrylate miniemulsion polymerization reactions, using lecithin as surfactant and miglyol 812 as costabilizer was studied. The preferential formation of the nanocapsule morphology was achieved with all the three evaluated initiation systems.

Reactions conducted in the presence of quercetin showed lower reaction rates than those carried out with similar formulations, but without quercetin, indicating that probably the presence of quercetin inhibits and/or retards the polymerization reaction and, consequently, quercetin may be partially consumed in the reactions. In the reactions using the redox pair composed by hydrogen peroxide and ascorbic acid in the presence of quercetin it was observed that the increment of the concentration of ascorbic acid resulted in a considerable increase of the reaction rate without influencing other properties as average diameter, due of the fact that ascorbic acid acts as a reducer of the oxidation of quercetin. This result is an indicative of the possibility of incorporating quercetin in nanocapsules synthesized via methyl methacrylate miniemulsion polymerization, using miglyol 812 as costabilizer and as quercetin carrier and the redox initiation system composed by hydrogen peroxide and ascorbic acid.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 2.1</b> - Princípio da polimerização em miniemulsão. (LANDFESTER, 2006) .....	4
<b>Figura 2.2</b> - Esquema do processo de sonificação. (ASUA, 2002) .....	5
<b>Figura 3.1</b> - Preparo da miniemulsão. a) Miniemulsão sendo dispersa no ultra-som. b) Dispersão imersa no banho de gelo. c) Equipamento de ultra-som (ULTRASONIC DISMEMBRATOR 500).....	13
<b>Figura 3.2</b> - Reação em ampolas. Banho termostático (MQBTCA-100), contendo as ampolas com as amostras de miniemulsão. ....	14
<b>Figura 3.3</b> - Equipamento de medida de tamanho de partícula. a) ZETASIZER NANO S, b) Amostra de miniemulsão na cubeta de análise. ....	17
<b>Figura 4.1</b> - Estrutura química do surfatante e do coestabilizador utilizados. a) Lecitina; b) Miglyol 812. ....	20
<b>Figura 4.2</b> – Comparação das evoluções das propriedades durante as reações em miniemulsão para obtenção de nanocápsulas e de nanoesferas poliméricas. a) Conversão; b) Diâmetro médio das partículas (nm); c) número de partículas / g de látex. Exp 7 e Exp 17 : nanocápsulas e Exp 15 e 18 : nanoesferas. ....	21
<b>Figura 4.3</b> – Comparação das evoluções do diâmetro médio das gotas da fase orgânica de formulações para síntese de nanoesferas (relação MMA:Miglyol 812 = 0,99:0,01) e de nanocápsulas (relação MMA:Miglyol = 0, 5:0,5) poliméricas.....	22
<b>Figura 4.4</b> – Comparação das evoluções das propriedades durante as reações de nanoesferas usando diferentes quantidades de iniciador. a) Conversão; b) Diâmetro médio das partículas (nm); c) Número de partículas/ g de látex. ....	24
<b>Figura 4.5</b> – Comparação das evoluções das propriedades durante as reações usando diferentes relações fase orgânica/fase aquosa (O/A) e relações surfatante/monômero (Lecitina/MMA). a) Conversão; b) Diâmetro médio das partículas (nm); c) Número de partículas/ g de látex. ....	27
<b>Figura 4.6</b> – Comparação das evoluções das propriedades durante as reações de polimerização de MMA e de VAc em miniemulsão usando Miglyol 812 como coestabilizador. a) Conversão; b) Velocidade de reação; c) Diâmetro médio das partículas (nm); d) Número de partículas/ g de látex. ....	29
<b>Figura 4.7</b> – Comparação das evoluções das propriedades durante as reações de polimerização de MMA e de VAc em miniemulsão usando óleo de rícino como coestabilizador. a) Conversão; b) Velocidade de reação; c) Diâmetro médio das partículas (nm); d) Número de partículas/ g de látex. ....	30
<b>Figura 4.8</b> - Estrutura química dos coestabilizadores utilizados. a) Miglyol 812; b) Óleo de rícino. ....	33
<b>Figura 4.9</b> – Comparação das evoluções do diâmetro médio das gotas da fase orgânica (monômero e coestabilizador) a) MMA e Miglyol 812; b) MMA e óleo de rícino. ....	35
<b>Figura 4.10</b> - Estrutura química da Quercetina. ....	35
<b>Figura 4.11</b> – Amostras dos testes de dispersão a) Quercetina no Miglyol 812 e b) Quercetina no MMA. ....	36
<b>Figura 4.12</b> – Comparação das evoluções das propriedades durante as reações de polimerização de MMA em miniemulsão usando Miglyol 812 ou óleo de rícino como coestabilizador. a) Conversão; b) Diâmetro médio das partículas (nm); c) Número de partículas/ g de látex. ....	37

<b>Figura 4.13</b> – Morfologia (TEM) das nanopartículas formadas nas reações de polimerização de MMA em miniemulsão. a) com Miglyol 812 como coestabilizador (Exp 04), b) com óleo de rícino como coestabilizador (Exp 39).....	38
<b>Figura 4.14</b> - Estrutura química dos surfatantes utilizados. a) Lecitina; b) Tween 80; c) Span 80. ....	39
<b>Figura 4.15</b> – Comparação das evoluções das propriedades durante as reações usando diferentes concentrações de surfatantes (Tween 80 e Span 80). a) Conversão; b) Diâmetro médio das partículas Dp (nm); c) Número de partículas Np / g de látex. ....	40
<b>Figura 4.16</b> – Comparação das evoluções das propriedades durante as reações usando diferentes tipos de surfatantes (Tween 80 e Span 80 ou lecitina) com e sem Quercetina. a) Conversão; b) Diâmetro médio Dp (nm); c) Número de partículas Np / g de látex.....	42
<b>Figura 4.17</b> – Morfologia (TEM) das nanocápsulas formadas nas reações de polimerização de MMA em miniemulsão com diferentes surfatantes. a) Lecitina (Exp 04) e b) Tween 80 e Span 80 (Exp 25). ....	43
<b>Figura 4.18</b> – Comparação das evoluções das propriedades durante as reações usando diferentes relações monômero/hidrófobo (MMA/Miglyol 812). a) Conversão; b) Diâmetro médio das partículas Dp (nm); c) Número de partículas Np / g de látex .....	45
<b>Figura 4.19</b> – Comparação dos diâmetros médios finais das partículas de polímero sintetizadas nas reações usando diferentes relações monômero/hidrófobo (MMA/Miglyol 812) com e sem Quercetina.....	46
<b>Figura 4.20</b> – Morfologia (TEM) e distribuição de tamanhos das nanocápsulas formadas nas reações de polimerização de MMA em miniemulsão com relação MMA/Miglyol 812 igual a 1:1 (Exp 04). ....	46
<b>Figura 4.21</b> – Morfologia (TEM) e distribuição de tamanhos das nanocápsulas formadas nas reações de polimerização de MMA em miniemulsão com relação MMA/Miglyol 812 igual a 3:1 (Exp 37). ....	47
<b>Figura 4.22</b> – Diferentes morfologias observadas nas micrografias (TEM) das partículas formadas na reação de polimerização de MMA em miniemulsão com relação MMA/Miglyol 812 igual a 1:1 (Exp 04). ....	47
<b>Figura 4.23</b> – Reações de oxidação do ácido ascórbico na presença do peróxido de hidrogênio (DEUTSCH, 1998 e BOUTTI et al., 2005). ....	48
<b>Figura 4.24</b> – Comparação das evoluções das propriedades durante as reações usando diferentes iniciadores (AIBN, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /AscA e KPS). a) Conversão; b) Diâmetro médio das partículas Dp (nm); c) Número de partículas Np / g de látex.....	50
<b>Figura 4.25</b> – Morfologia (TEM) e distribuição de tamanhos das nanocápsulas das polimerizações de MMA em miniemulsão com AIBN como iniciador (Exp 04).....	51
<b>Figura 4.26</b> – Morfologia (TEM) e distribuição de tamanhos das nanocápsulas das polimerizações de MMA em miniemulsão com o par redox H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> e AscA como sistema de iniciação (Exp 32).....	51
<b>Figura 4.27</b> – Morfologia (TEM) e distribuição de tamanhos das nanocápsulas das polimerizações de MMA em miniemulsão com KPS como iniciador (Exp 34). ....	51
<b>Figura 4.28</b> – Comparação das evoluções das propriedades durante as reações usando diferentes iniciadores (AIBN e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /AscAc) com ou sem Quercetina. a) Conversão; b) Diâmetro médio das partículas Dp (nm); c) Número de partículas Np / g de látex. ....	54
<b>Figura 4.29</b> – Comparação das evoluções das propriedades durante as reações usando diferentes concentrações de ácido ascórbico com Quercetina. a) Conversão; b) Diâmetro médio das partículas Dp (nm); c) Número de partículas Np / g de látex. ....	55
<b>Figura 4.30</b> – Ampolas após as reações de polimerização de MMA em miniemulsão com Quercetina (amarela) depositada no fundo. ....	56

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 2.1</b> - Mecanismo cinético das reações de homopolimerização de metacrilato de metila ou de acetato de vinila. ....	7
<b>Tabela 3.1</b> - Formulações ilustrativas das polymerizações de MMA em miniemulsão realizadas para formação de nanocápsulas e de nanoesferas.....	15
<b>Tabela 4.1</b> - Formulações das polymerizações de MMA em miniemulsão realizadas a 60 e 70 °C comparando as reações para formação de nanocápsulas e de nanoesferas.....	20
<b>Tabela 4.2</b> - Formulações das reações de polymerização de MMA em miniemulsão para formação de nanoesferas usando diferentes concentrações de iniciador.....	23
<b>Tabela 4.3</b> – Comparação entre os diâmetros iniciais das gotas de monômero (Dg) e finais das partículas de polímero (Dp) de reações em miniemulsão para obtenção de nanocápsulas e de nanoesferas poliméricas.....	25
<b>Tabela 4.4</b> - Formulações das polymerizações de MMA em miniemulsão realizadas a 70 °C com diferentes frações de fase orgânica e concentrações de surfatante. ....	26
<b>Tabela 4.5</b> - Formulações das reações de polymerização de metacrilato de metila e de acetato de vinila em miniemulsão realizadas a 70 °C. ....	28
<b>Tabela 4.6</b> – Constantes de transferência de cadeia adimensionais de radicais MMA e VAc para os respectivos monômeros e para ésteres ácidos, Brandrup et al. (1999).....	31
<b>Tabela 4.7</b> – Comparação entre os diâmetros iniciais das gotas de monômero (Dg) e finais das partículas de polímero (Dp) de reações em miniemulsão para obtenção de nanocápsulas poliméricas (PMMA e PVAc). ....	32
<b>Tabela 4.8</b> – Formulações usadas nas avaliações das evoluções do diâmetro médio das gotas da fase orgânica usando diferentes tipos de coestabilizador (Miglyol 812 ou óleo de rícino) e relações monômero:coestabilizador. ....	34
<b>Tabela 4.9</b> - Formulações das reações de polymerização de metacrilato de metila em miniemulsão com diferentes hidrófobos, Miglyol e Óleo de Rícino.....	35
<b>Tabela 4.10</b> - Formulações das reações de polymerização de MMA em miniemulsão realizadas a 70 °C com diferentes quantidades de surfatante – Tween 80 e Span 80. ....	39
<b>Tabela 4.11</b> - Formulações das reações de polymerização de metacrilato de metila em miniemulsão realizadas a 70 °C com diferentes tipos de surfatante – Tween 80 e Span 80 ou lecitina, com e sem Quercetina.....	41
<b>Tabela 4.12</b> – Comparação entre os diâmetros finais das partículas de polímero (Dp) de reações em miniemulsão para obtenção de nanocápsulas poliméricas realizadas com diferentes tipos de surfatantes (Tween 80 e Span 80 ou lecitina) com e sem Quercetina.....	43
<b>Tabela 4.13</b> - Formulações das reações de polymerização de MMA em miniemulsão realizadas a 70 °C com diferentes relações de MMA/Miglyol 812 e Quercetina.....	44
<b>Tabela 4.14</b> - Constantes cinéticas de degradação a 70 °C e solubilidade na água dos iniciadores avaliados neste item. ....	49
<b>Tabela 4.15</b> - Formulações das reações de polymerização de metacrilato de metila em miniemulsão realizadas a 70 °C com diferentes iniciadores, AIBN, KPS e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /AscA. ....	49
<b>Tabela 4.16</b> - Formulações das reações de polymerização de MMA em miniemulsão realizadas a 70 °C com diferentes iniciadores, AIBN e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /AscA com e sem Quercetina. ..	53
<b>Tabela 4.17</b> - Formulações das reações de polymerização de metacrilato de metila em miniemulsão realizadas a 70 °C com diferentes iniciadores, AIBN e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /AscA, com diferentes concentrações de AscA e com Quercetina.....	54
<b>Tabela 4.18</b> – Percentuais de Quercetina remanescentes nos látices (após as reações de polymerização de MMA em miniemulsão). ....	57

# LISTA DE SÍMBOLOS

$A$	Monômero $A$ - metacrilato de metila ou acetato de vinila
$A_m^\bullet$	Cadeia polimérica ativa de comprimento $m$
$A_n^\bullet$	Cadeia polimérica ativa de comprimento $n$
$A^\bullet$	Cadeia polimérica ativa
$C$	Concentração de coestabilizador ( $\text{mol}/\text{cm}^3$ )
$Dg$	Diâmetro médio da gota (nm)
$Dp$	Diâmetro médio da partícula (nm)
$I$	Iniciador
$k_d$	Constante cinética de decomposição do iniciador (1/s)
$k_f$	Constante cinética de transferência cadeia para o monômero ( $\text{cm}^3/(\text{mol s})$ )
$k_{fc}$	Constante cinética de transferência de cadeia para o coestabilizador ( $\text{cm}^3/(\text{mol s})$ )
$k_{fp}$	Constante cinética de transferência de cadeia para polímero ( $\text{cm}^3/(\text{mol s})$ )
$k_p$	Constante cinética de propagação ( $\text{cm}^3/(\text{mol s})$ )
$k_{p=}$	Constante cinética de propagação com a dupla ligação interna do coestabilizador ( $\text{cm}^3/(\text{mol s})$ )
$k_{td}$	Constante cinética de terminação por desproporcionamento ( $\text{cm}^3/(\text{mol s})$ )
$M$	Massa molar do hidrófobo (g/mol)
$Np$	Número de partículas
$P$	Polímero $P$ - poli(metacrilato de metila) ou poli(acetato de vinila)
$Rp$	Taxa de propagação (mol/s)
$Na$	Número de avogrado
$R$	Constante universal dos gases ( $\text{J}/(\text{mol K})$ )
$T$	Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )
$A$	Cadeia polimérica inativa
$A_m$	Cadeia polimérica inativa de comprimento $m$
$A_n$	Cadeia polimérica inativa de comprimento $n$

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcAsc	Ácido ascórbico
AIBN	2,2'-azo-bis-iobutironitrila
BPO	<i>Benzoyl peroxide</i> , peróxido de di-benzoíla
CMC	Concentração micelar crítica
DMSO	Dimetilsulfóxido
DSL	<i>Dynamic light scattering</i> , espalhamento dinâmico de luz
DTP	Distribuição do tamanho de partículas
HLB	<i>Hydrofile-lypofile balance</i> , balanço hidrofílico-lipofílico
HPO	<i>Hydrogen peroxide</i> , peróxido de hidrogênio
KPS	<i>Potassium persulfate</i> , persulfato de potássio
LPO	<i>Lauril peroxide</i> , peróxido de laurila
MMA	<i>Methyl methacrylate</i> , metacrilato de metila
MET	Microscopia eletrônica de transmissão
PMMA	<i>Poly(methyl metacrilate)</i> , poli(metacrilato de metila)
SLS	<i>Sodium lauryl sulfate</i> , lauril sulfato de sódio
VAc	<i>Vinil acetate</i> , acetato de vinila
PVAc	<i>Poly(vinil acetate)</i> , poli(acetato de vinila)

# SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO I .....</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
1.1 OBJETIVOS .....	2
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>3</b>
<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>3</b>
2.1 INTRODUÇÃO .....	3
2.2 POLIMERIZAÇÃO EM MINIEMULSÃO .....	3
2.2.1 PREPARO DA MINIEMULSÃO .....	4
2.2.2 DEGRADAÇÃO DA MINIEMULSÃO .....	5
2.2.3 REAÇÃO DE POLIMERIZAÇÃO EM MINIEMULSÃO .....	6
2.2.3.1 NUCLEAÇÃO DAS PARTÍCULAS .....	6
2.2.3.2 MECANISMO CINÉTICO .....	7
2.3 NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS .....	8
2.3.1 SÍNTESE DE NANOCÁPSULAS VIA POLIMERIZAÇÃO EM MINIEMULSÃO .....	8
2.4 FLAVONÓIDES.....	9
2.4.1 LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FLAVONÓIDES .....	10
2.4.2 QUERCETINA .....	10
<b>CAPÍTULO III .....</b>	<b>12</b>
<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>12</b>
3.1 INTRODUÇÃO .....	12
3.2 REAGENTES .....	12
3.3 UNIDADE EXPERIMENTAL.....	13
3.3.1 PREPARO DA MINIEMULSÃO .....	13
3.3.2 POLIMERIZAÇÃO EM MINIEMULSÃO .....	14
3.4 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS .....	14
3.4.1 PREPARO DA MINIEMULSÃO .....	14
3.4.2 POLIMERIZAÇÃO EM MINIEMULSÃO .....	15
3.5 CARACTERIZAÇÃO .....	15
3.5.1 CONVERSÃO GRAVIMÉTRICA.....	16
3.5.2 TAMANHO DE PARTÍCULA.....	16

3.5.3 NÚMERO DE PARTÍCULAS .....	17
3.5.4 MORFOLOGIA E DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DE PARTÍCULA .....	18
3.5.5 DOSEAMENTO DA QUERCETINA .....	18
<b>CAPÍTULO IV.....</b>	<b>19</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>19</b>
4.1 INTRODUÇÃO .....	19
4.2 COMPARAÇÃO ENTRE REAÇÕES PARA OBTENÇÃO DE NANOCÁPSULAS E DE NANOESFERAS POLIMÉRICAS VIA REAÇÕES DE POLIMERIZAÇÃO DE MMA EM MINIEMULSÃO .....	19
4.3 EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE INICIADOR NAS POLIMERIZAÇÕES DE MMA EM MINIEMULSÃO PARA OBTENÇÃO DAS NANOESFERAS.....	23
4.4 EFEITO DA FRAÇÃO DA FASE ORGÂNICA E DA CONCENTRAÇÃO DE SURFATANTE NAS POLIMERIZAÇÕES DE MMA EM MINIEMULSÃO PARA FORMAÇÃO DE ANOCÁPSULAS.....	26
4.5 EFEITO DO TIPO DE MONÔMERO MMA OU VAC NAS POLIMERIZAÇÕES EM MINI- EMULSÃO PARA FORMAÇÃO DE NANOCÁPSULAS.....	28
4.6 EFEITO DO TIPO DE COESTABILIZADOR MIGLYOL 812 OU ÓLEO DE RÍCINO NAS POLIMERIZAÇÕES DE MMA EM MINIEMULSÃO PARA FORMAÇÃO DE NANOCÁPSULAS – ENCAPSULAÇÃO DE QUERCETINA .....	33
4.7 EFEITO DO TIPO DE SURFATANTE NAS POLIMERIZAÇÕES DE MMA EM MINIEMULSÃO PARA FORMAÇÃO DE NANOCÁPSULAS.....	39
4.8 EFEITO DA RELAÇÃO MMA/MIGLYOL 812 NAS POLIMERIZAÇÕES DE MMA EM MINI- EMULSÃO PARA FORMAÇÃO DE NANOCÁPSULAS – ENCAPSULAÇÃO DE QUERCETINA .....	44
4.9 EFEITO DO TIPO DE INICIADOR NAS POLIMERIZAÇÕES DE MMA EM MINIEMULSÃO PARA FORMAÇÃO DE NANOCÁPSULAS – ENCAPSULAÇÃO DE QUERCETINA .....	48
4.10 DOSEAMENTO DA QUERCETINA APÓS AS POLIMERIZAÇÕES DE MMA EM MINI- EMULSÃO PARA FORMAÇÃO DE NANOCÁPSULAS.....	56
<b>CAPÍTULO V .....</b>	<b>58</b>
<b>CONCLUSÃO E SUGESTÕES .....</b>	<b>58</b>
5.1 CONCLUSÃO .....	58
5.1 SUGESTÕES .....	60
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>61</b>
<b>ANEXO .....</b>	<b>67</b>



# CAPÍTULO I

## INTRODUÇÃO

As nanocápsulas são sistemas reservatórios dentro dos quais os componentes ativos se encontram confinados em uma cavidade que consiste de um núcleo líquido (um óleo que possa dissolver agentes lipofílicos) rodeado por uma parede polimérica com uma espessura da ordem de nanômetros. Para esse fim, a polimerização em miniemulsão apresenta como vantagem a possibilidade de se obter nanocápsulas em uma única etapa de reação e se baseia nas diferenças de tensão interfacial e do processo de separação de fases durante a polimerização. Acredita-se que a maioria das gotas de monômero são convertidas em partículas não requerendo o transporte do monômero ou de outros compostos hidrofóbicos entre as fases como ocorre no caso das reações de polimerização em emulsão (transporte do monômero das gotas de monômero para as partículas de polímero, *locus* da polimerização). Esta característica torna a polimerização em miniemulsão atrativa para o nanoencapsulamento, pois o composto a ser encapsulado já se encontra no interior do *locus* de polimerização. Entretanto, os efeitos dos fatores termodinâmicos e cinéticos na separação das fases, da nucleação homogênea (e ou micelar) e da estabilidade coloidal das partículas na morfologia final das partículas são de suma importância para a eficácia do método.

Polímeros naturais e sintéticos são amplamente usados no desenvolvimento de sistemas para liberação controlada e direcionada de fármacos e diversas técnicas podem ser utilizadas para produção de nanopartículas (ZANETTI-RAMOS et al., 2006) e, em particular, de nanocápsulas poliméricas (TIARKS et al., 2001, FENG et al., 2002). As nanocápsulas poliméricas podem ser sintetizadas a partir de polímeros previamente formados, por exemplo, pela técnica de deposição interfacial ou nanoprecipitação (BLOUZA et al., 2006 e WEISS-ANGELI et al., 2008) ou por técnicas que envolvem a polimerização tais como, inchamento osmótico (BLANKENSHIP e KOWALSKI, 1986), encapsulação de um não solvente (McDONALD et al., 2000), inchamento com um solvente (OKUBO e YOSHIMURA, 1996), incorporação de um agente expensor (WU et al., 1998), polimerização em emulsão de água-óleo-água (KIM et al., 1999), polimerização em miniemulsão (TIARKS et al., 2001). Para tais

aplicações, os materiais empregados na preparação das nanocápsulas necessitam ser ao menos biocompatíveis.

Nanoesferas e nanocápsulas poliméricas são muito utilizadas como carreadores de drogas insolúveis em água (DAÍ et al., 2004). A quercetina é metabolizada rapidamente nas condições gástricas antes de ser absorvida pelo intestino delgado (ADER et al., 2000). Além disso, devido a sua baixa solubilidade em água a quercetina tem habilidade inerentemente limitada de alcançar a corrente sanguínea em quantidade eficiente a partir de formas de dosagem oral. Portanto a encapsulação pode ser uma alternativa interessante para a liberação veiculada da quercetina, aumentando a sua biodisponibilidade no local desejado.

## 1.1 OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo o estudo do processo de obtenção de nanocápsulas poliméricas biocompatíveis e avaliação da possibilidade de encapsulação de um fármaco (quercetina) via polimerização em miniemulsão.

Para aplicações biomédicas das nanocápsulas um fator importante é uso de materiais biocompatíveis nas formulações da miniemulsão. Portanto, neste trabalho é estudado o efeito do tipo de surfatante (lecitina ou par Tween 80 e Span 80), iniciador (2,2'-azo-bis-isobutironitrila, *AIBN*, ou persulfato de potássio, *KPS*, ou par redox, peróxido de hidrogênio,  $H_2O_2$ , e ácido ascórbico (*AscA*)), coestabilizador (Miglyol 812 ou óleo de rícino) e do monômero (metacrilato de metila ou acetato de vinila) na polimerização em miniemulsão.

Para facilitar a compreensão, este trabalho foi dividido em cinco capítulos. O Capítulo I traz a Introdução. No Capítulo II é apresentada a Revisão Bibliográfica com os principais fundamentos teóricos necessários ao desenvolvimento deste trabalho e a descrição do processo de polimerização em miniemulsão, bem como as variáveis envolvidas. O Capítulo III descreve os materiais usados e os procedimentos adotados durante o desenvolvimento deste trabalho, enquanto o Capítulo IV apresenta os principais resultados envolvendo um estudo experimental do efeito do tipo de surfatante, iniciador, coestabilizador e monômero na polimerização em miniemulsão visando a síntese de partículas com morfologia de nanocápsulas e o encapsulamento da quercetina. No Capítulo V estão relatadas as conclusões gerais, bem como sugestões para trabalhos futuros.

# **CAPÍTULO II**

## **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 INTRODUÇÃO**

O objetivo deste capítulo é apresentar uma revisão sobre a polimerização em miniemulsão para formação de nanopartículas, com ênfase na formação de nanocápsulas biocompatíveis para aplicações médicas. Enquanto produtos farmacêuticos são desenvolvidos, nanopartículas poliméricas têm sido extensivamente estudadas como carreadores para liberação controlada (GREF et al., 1994; WU et al., 2005).

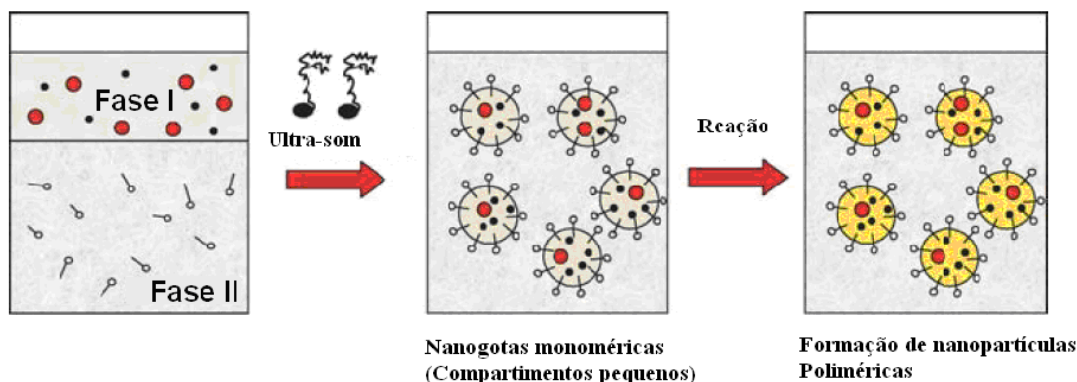
### **2.2 POLIMERIZAÇÃO EM MINIEMULSÃO**

Miniemulsões são classicamente definidas como dispersões aquosas de gotículas de óleo relativamente estáveis dentro de uma faixa de tamanhos de 50-500 nm, preparadas por um sistema contendo óleo, água, um surfatante e um coestabilizador (LANDFESTER et al., 1999).

A idéia da polimerização em miniemulsão é iniciar a polimerização em cada uma das gotas pequenas, isso significa que, a polimerização ocorre em pequenas nanogotas ou nanoreatores (UGELSTAD et al., 1973). Na primeira etapa do processo de polimerização, pequenas gotas de 50-500 nm são formadas pela dispersão de um sistema contendo a fase dispersa (gotas líquidas, óleo), a fase contínua (fase aquosa), um surfatante e um coestabilizador (normalmente um hidrófobo) (LANDFESTER, 2006). Para fazer esta dispersão é necessário aplicar um mecanismo de alta tensão cisalhante para alcançar um estado estacionário obtido pelo equilíbrio das taxas de rompimento e de coalescência.

Na segunda etapa, estas gotas são polimerizadas. O tamanho das gotas, diretamente depois do preparo da miniemulsão, depende principalmente das quantidades e tipos de surfatante e coestabilizador e das condições de dispersão. O princípio da polimerização em miniemulsão é representado na Figura 2.1. A Fase I representa a fase orgânica, monômero,

coestabilizador e surfatante, se este tiver maior afinidade por esta fase, e a Fase II representa a fase aquosa, água e surfatante.

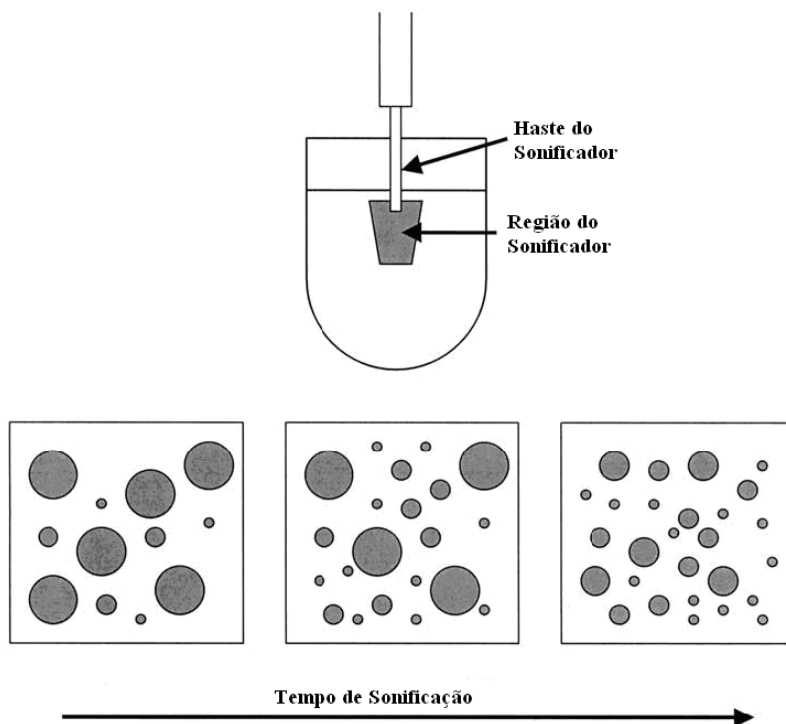


**Figura 2.1** - Princípio da polimerização em miniemulsão. (LANDFESTER, 2006)

## 2.2.1 PREPARO DA MINIEMULSÃO

Diferentes equipamentos estão disponíveis comercialmente para a miniemulsificação. Os mais importantes são sistemas do tipo rotor-estator (OUZINEB et al., 2006, ORO et al., 2006, ZANETTI-RAMOS et al., 2006) e homogeneizadores de alta pressão, microfluidizador (AL-GHAMDI et al., 2006) e Manton Gaulin (DO AMARAL e ASUA, 2004), que permitem a miniemulsificação de grandes quantidades produzindo uma dispersão bastante homogênea (ASUA, 2002, ANTONIETTI e LANDFESTER, 2002 e SHORK et al., 2005). A ultrasonificação (ALDULCIN et al., 1994, MILLER et al., 1995, WANG et al., 1996, LANDFESTER, 2006) é usada especialmente em escala laboratorial para a dispersão de pequenas quantidades. Existem diversos mecanismos possíveis para o rompimento e formação das gotas submicrométricas sob a influência do ultra-som. Um deles é a formação das gotas em consequência das oscilações instáveis da interface líquido-líquido.

O sonificador produz ondas de ultra-som que causam a oscilação das moléculas próximas ao principal local de propagação das ondas. Um aspecto associado com o sonificador é que, como mostra a Figura 2.2, somente uma pequena região do fluido ao redor do sonificador é diretamente afetada pelas ondas de ultra-som. Logo, para ocorrer a quebra, as gotículas de monômero devem passar através dessa região. Por isso, quando é usada a sonificação para formar a miniemulsão, uma agitação adicional precisa ser usada para garantir que todo o fluido passe através da região de sonificação. (ASUA, 2002).



**Figura 2.2** - Esquema do processo de sonificação. (ASUA, 2002)

### 2.2.2 DEGRADAÇÃO DA MINIEMULSÃO

A degradação difusional (Ostwald ripening) e a coalescência podem levar a desestabilização e subsequente quebra da emulsão (CAPEK, 2004). Para criar uma emulsão estável de gotas muito pequenas, a qual, por razões históricas, é chamada de miniemulsão, as gotas devem ser estabilizadas contra a degradação de Ostwald por processos difusionais e contra a coalescência por colisões (ASUA, 2002).

A transferência de massa das gotas menores para gotas maiores (Ostwald ripening) determina o destino da distribuição. Com a utilização de um coestabilizador, a estabilidade da miniemulsão é aumentada consideravelmente, pois este impede eficientemente a degradação das gotas menores (HIGUSHI e MISRA, 1962, ASUA, 2002, ANTONIETTI E LANDFESTER, 2002).

Além da difusão molecular da fase dispersa, uma desestabilização da emulsão também pode ocorrer pelo processo de colisão ou coalescência. Este processo ocorre quando duas ou mais gotas estão suficientemente próximas para permitir um contato destas gotas, e assim essas gotas tendem a formar uma única maior. A estabilização contra a coalescência é efetuada adicionando um surfatante apropriado, o qual promove a estabilização eletrostática e/ou estérica das gotas, (CHOU et al., 1980).

## **2.2.3 REAÇÃO DE POLIMERIZAÇÃO EM MINIEMULSÃO**

### **2.2.3.1 NUCLEAÇÃO DAS PARTÍCULAS**

Na polimerização via miniemulsão existem três mecanismos possíveis de nucleação: a nucleação das gotas, que é desejável e acontece quando o radical entra na gotícula de monômero; a nucleação micelar, que é um mecanismo indesejado na polimerização em miniemulsão e ocorre quando os surfatantes livres formam micelas que dão origem a uma partícula após a entrada de um radical; e a nucleação homogênea e/ou coagulativa também indesejada, formada a partir do crescimento dos oligo-radicais a um comprimento que faz com que estes se tornem insolúveis em água e precipitam (ASUA, 2002).

Hansen e Uglstad (1979) observaram que na polimerização em miniemulsão, usando hexadecano, com uma baixa intensidade de agitação, grandes gotas eram formadas e os surfatantes livres formavam micelas que davam origem a partículas pela nucleação micelar. Com o aumento da intensidade da agitação, gotas pequenas eram formadas e mais surfatante era requerido para estabilizar as gotas, sobrando menos surfatante livre para formar micelas. Por este motivo, as miniemulsões são preparadas com uma intensidade alta de homogeneização, pois assim as micelas desaparecem, mais gotas são formadas e a nucleação destas forma as partículas.

A formação dos radicais ocorre pela decomposição do iniciador, e, nas polimerizações em miniemulsão, esse iniciador pode ser organossolúvel ou hidrossolúvel. Os iniciadores organossolúveis são indicados para reações que envolvem monômeros que apresentam uma alta solubilidade em água (por exemplo, MMA), evitando a nucleação secundária (micelar e homogênea) na fase aquosa, e também para polimerização de monômero com solubilidade extremamente baixa na água (por exemplo, metacrilato de laurila (LMA)). Neste caso, a concentração do monômero na fase aquosa não é suficiente para criar oligoradicais capazes de entrar nas gotas (LANDFESTER, 2001).

Saethre et al. (1995) observou que a nucleação das partículas por outros mecanismos, além da nucleação das gotas, aumentou com a solubilidade do iniciador na fase aquosa e que as reações com o par de oxi-redução peróxido de hidrogênio e ácido ascórbico resultaram em uma menor nucleação homogênea do que aquelas com persulfato de potássio, provavelmente devido a atividade superficial dos radicais terminados pelo grupo sulfato, que podem promover alguma auto-estabilização dos radicais precipitados via mecanismo de nucleação homogênea.

O *locus* da formação dos radicais foi estudado por Aldulcin et al., (1991) sendo feita uma comparação entre a polimerização em emulsão e em miniemulsão. Foi observado que, usando iniciadores 2,2'-azo-bis-isobutironitrila (AIBN), peróxido de laurila (LPO) ou peróxido de benzoila (BPO), os radicais são produzidos principalmente na fase óleo. Sendo que o AIBN apresenta uma produção acentuada de radicais na fase aquosa. Além disso, também foi estudada a habilidade destes iniciadores com diferentes solubilidades em água, para estabilizar gotas de monômero contra a degradação pela difusão molecular. Sendo observado que quanto mais hidrofóbico for o iniciador maior será a estabilidade proporcionada.

### 2.2.3.2 MECANISMO CINÉTICO

Na Tabela 2.1 são apresentadas as etapas cinéticas da homopolimerização em miniemulsão via radicais livres dos monômeros metacrilato de metila e acetato de vinila.

**Tabela 2.1** - Mecanismo cinético das reações de homopolimerização de metacrilato de metila ou de acetato de vinila.

Iniciação	$I \xrightarrow{k_d} 2I \bullet$ $I \bullet + A \xrightarrow{k_{IA}} A_1 \bullet$
Propagação	$A_n \bullet + A \xrightarrow{k_{pAA}} A_{n+1} \bullet$
Transferência de cadeia para monômero	$A_n \bullet + A \xrightarrow{k_{fAA}} A_n + A_1 \bullet$
Transferência de cadeia para polímero	$A_n \bullet + \Lambda_m \xrightarrow{k_{pAA}} \Lambda_n + A_m \bullet$
Transferência de cadeia para co-estabilizador	$A_n \bullet + C \xrightarrow{k_{fAC}} \Lambda_n + C_1 \bullet$
Propagação com dupla ligação interna do coestabilizador	$A_n \bullet + C \xrightarrow{k_{pAC=}} A_n C_1 \bullet$
Terminação por desproporcionamento*	$A_n \bullet + A_m \bullet \xrightarrow{k_{tdAA}} \Lambda_n + \Lambda_m$
Terminação por combinação	$A_n \bullet + A_m \bullet \xrightarrow{k_{tdAA}} \Lambda_{n+m}$

\* Mecanismo de terminação preferencial para metacrilato de metila e acetato de vinila.

As reações de transferência de cadeia (BATHFIELD et al., 2005) e com duplas ligações internas do coestabilizador podem ocorrer dependendo do tipo e da concentração de coestabilizador utilizado e, eventualmente, podem levar ao retardo da reação se o novo radical formado apresentar reatividade muito menor que o radical original.

## **2.3 NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS**

Nanocápsulas poliméricas são partículas com morfologia casca-núcleo nas quais o núcleo é constituído por um composto que se deseja encapsular e que em algumas aplicações podem conter um composto ativo dissolvido. Devido à sua baixa densidade, grande área superficial, estabilidade e permeabilidade superficial, as nanocápsulas são de grande interesse tecnológico e científico. São largamente utilizadas nas aplicações biológicas, assim como liberação controlada de drogas, células artificiais e imuno-diagnósticos (ALLÉMAN et al., 1993, COUVREUR et al., 1995, FENG e CHIEN, 2003, BOURGEAT-LAMI, 2003).

### **2.3.1 SÍNTESE DE NANOCÁPSULAS VIA POLIMERIZAÇÃO EM MINIEMULSÃO**

As nanocápsulas podem ser obtidas através de diversas técnicas como inchamento osmótico (BLANKENSHIP e KOWALSKI, 1986), encapsulação de um não solvente (MCDONALD et al., 2000), emulsão de água-em-óleo-em-água (KIM et al., 1999), inchamento com um solvente (OKUBO e YOSHIMURA, 1996), incorporação de um agente expensor (WU et al., 1998), deposição interfacial ou nanoprecipitação de polímero previamente formado (BLOUZA et al., 2006 e WEISS-ANGELI et al., 2008) e polimerização em miniemulsão (TIARKS et al., 2001). Esta última técnica apresenta como vantagem a possibilidade de se obter as nanocápsulas em apenas uma única etapa de reação e se baseia nas diferenças de tensão interfacial e do processo de separação de fases durante a polimerização (TIARKS et al., 2001).

Tiarks et al. (2001) obtiveram nanocápsulas de PMMA via polimerização em miniemulsão usando hexadecano como hidrófobo, AIBN como iniciador organo-solúvel e o SLS como surfatante aniônico resultando em uma distribuição estreita de tamanho de partícula. No mesmo grupo Crespy et al. (2006) sintetizaram nanocápsulas poliméricas de



estireno e de divinil benzeno usando AIBN como iniciador, hexadecano como co-estabilizador e o surfatante aniônico polimerizável Tego Xp-1008.

Para aplicações biomédicas, os materiais empregados na preparação das cápsulas necessitam ser ao menos biocompatíveis. BATHFIELD et al. (2005) encapsularam, em partículas de poli(acetato de vinila), um hidrófobo biodegradável, o Miglyol 812N, e como surfatante não iônico biocompatível, foi usado Pluronic F68 e o macromonômero caprolactona.

Em um trabalho anterior do grupo (ROMIO, 2007) foi verificado que é possível obter nanocápsulas estáveis via polimerização de metacrilato de metila em miniemulsão usando Neobee M-5 como coestabilizador e lecitina como surfatante. A lecitina natural é formada por fosfolípídeos não tóxicos e é aprovada pelo “Food and Drug Administration” (FDA) para uso oral. Neste trabalho foi avaliado o efeito de diferentes concentrações de lecitina e energia de dispersão nas características morfológicas do látex final.

## **2.4 FLAVONOIDES**

Recentemente, os flavonóides têm atraído um grande interesse como agente terapêutico contra uma grande variedade de doenças, na maioria envolvendo danos causados pela presença de radicais livre (RICE-EVANS et al., 1996, CUNET et al., 2003, CALABRO et. al., 2004, WALLE, 2004). Flavonóides é o maior grupo de polifenóis encontrados em frutas e vegetais. Os efeitos benéficos relacionados à saúde desses compostos antioxidantes tem sido relatados como antitumor, antimutagênico e atividades de antienvelhecimento (BRAVO, 1998), além de atividade antibacteriana, antiviral (HARWOOD et al., 2007). Assim, o consumo de plantas e produtos de plantas ricas em flavonoides, assim como cacau, vinho, chás, e grãos, tem sido relatados com efeitos de proteção contra doenças cardiovasculares e certas formas de câncer (DUTHIE et al., 2000, HERTOOG et al., 1993, BLOT et al., 1997).

A estrutura desses compostos é a chave determinante da sua atividade antioxidante, a qual também tem sido associado com a quelatação dos íons de metal (VAN ACKER et al., 1996), a inibição de enzimas oxidativas (COS et al., 1998), e ativação de defesas antioxidantes (ROIG et al., 2002, ALIA et al., 2006).

### **2.4.1 LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FLAVONOIDES**

Nanoesferas e nanocápsulas poliméricas são muito utilizadas em liberação de drogas insolúveis em água, assim como ciclosporina A (DAÍ et al., 2004), ácido elágico (BALA et al., 2006) e coenzima Q10 (HSU et al., 2003) por causa de seus tamanhos reduzidos (abaixo de 1000 nm) que podem aumentar a absorção e a biodisponibilidade da droga liberada. Além da biodisponibilidade, outras propriedades como a baixa toxicidade, e boa compatibilidade devem ser adequadas para o uso em formulações biomédicas e farmacêuticas (KUMAR, 2000; SINHA et al., 2004).

No caso da incorporação em nanoesferas a droga se encontra dispersa na matriz polimérica ou adsorvida a sua superfície, enquanto que na encapsulação a droga geralmente se encontra no interior das cápsulas. A microencapsulação (partículas com diâmetros acima de 1 µm) é uma estratégia extensivamente usada, por exemplo, para assegurar a proteção gástrica e melhorar a liberação de uma droga em liberação controlada gastro-resistente (BENITA, 1996; VARDE et al., 2004). Alternativamente, também pode ser realizada a nanoencapsulação, neste caso a liberação do composto encapsulado é favorecida pela elevada área superficial das nanocápsulas (FENG e CHIEN 2003).

Os polímeros utilizados para a nanoencapsulação podem ser naturais ou sintéticos, sendo que os polímeros sintéticos podem ser “projetados” e sintetizados para fornecer uma faixa mais ampla de propriedades (LU e CHEN, 2004 e NAIR e LAURENCIN, 2007) devido a versatilidade apresentada pelas reações de polimerização (BATHFIELD et al., 2005). A liberação do composto encapsulado pode ocorrer por mecanismos difusivos e, se o polímero for biodegradável, erosivo (FENG e CHIEN 2003), podendo ser controlada pelo diâmetro e espessura da casca das nanocápsulas e pela massa molar e grau de reticulação do polímero. A liberação pelo mecanismo erosivo também pode ser controlada pela biodegradabilidade do polímero. Portanto, as características de liberação podem ser moduladas de maneira efetiva através da otimização destas propriedades poliméricas (NAIR e LAURENCIN, 2007).

### **2.4.2 QUERCETINA**

A Quercetina (3,5,7,3',4'- pentahidroxi flavona) é um flavonóide bem conhecido presente em frutas como maçãs, vegetais como cebolas, ervas (KÜHNAU, 1976, HERTOOG et al., 1992, HOLLMAN et al., 1997), Ginkgo biloba (WATSON e OLIVEIRA, 1999), e vinho tinto (KAREM et al., 2004). A Quercetina tem sido extensivamente estudada por seus efeitos

farmacológicos que incluem atividades anti-tumoral (KANADASWAMI et al., 2005), anti-inflamatória (COMALADA et al., 2005), anti-oxidante (INAL e KAHRAMAN, 2000), e de hepatoproteção (LEE et al., 2003).

De acordo com Ader et al. (2000), estudos clínicos investigaram diferentes regimes terapêuticos para administração da quercetina e todos foram limitados pela sua baixa solubilidade em água. A quercetina é metabolizada rapidamente nas condições gástricas antes de ser absorvida pelo intestino delgado. Além disso, ela tem habilidade inerentemente limitada para permear na mucosa gástrica a partir de formas de dosagem oral e alcançar a corrente sanguínea em quantidade eficiente. Muitas pesquisas tem tentado melhorar sua solubilidade pela adição de dimetilsulfóxido, DMSO, (ADER et al., 2000). Porém, a segurança da adição de um teor elevado DMSO é questionável devido ao risco do efeito de vasoconstrictor e toxicidade neurológica (WINDRUM, et al., 2005). Adicionalmente, foi sintetizado um derivado solúvel em água para quercetina, mas a sua biodisponibilidade era de somente 20% (MULLHOLLAND et al., 2001). Além disso, várias outras técnicas tem sido utilizadas para aumentar a solubilidade da quercetina, incluindo a complexação com ciclodextrina e liposoma (PRALHAD e RAJENDRAKUMAR, 2004; YUAN et al., 2006). No entanto, o uso de ciclodextrina está associado com o risco de nefrotoxicidade (FRIJLINK et al., 1991) e utilizando liposoma podem ocorrer problemas de estabilidade durante o armazenamento (MU e ZHONG, 2006). Portanto a encapsulação pode ser uma alternativa interessante para a liberação controlada e direcionada da quercetina, aumentando a sua biodisponibilidade sistêmica.

Recentemente foi publicado um trabalho (WEISS-ANGELI et al., 2008) no qual foi verificado que a co-nanoencapsulação de quercetina e de octilmetoxicinamato (filtro solar) retardou a fotodegradação destes dois componentes sob radiação ultravioleta. Neste trabalho as nanocápsulas foram sintetizadas pela técnica de deposição interfacial (nanoprecipitação) do polímero policaprolactona.

## CAPÍTULO III

# MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1 INTRODUÇÃO

Nesta seção serão descritos a unidade e o procedimento experimentais utilizados nas reações de polimerização em miniemulsão visando a formação de nanocápsulas poliméricas, além das técnicas analíticas usadas para caracterizar o material obtido.

### 3.2 REAGENTES

O monômero utilizado neste trabalho foi o metacrilato de metila, com grau de pureza superior a 99,94%, e concentração do inibidor 17-23 mg/kg, o qual foi fornecido pela empresa ARINOS Química, ou acetato de vinila.

Como iniciador, foi utilizado o persulfato de potássio, *KPS*, ou o 2,2'-azo-bis-isobutironitrila, *AIBN*, fornecidos pela empresa Vetec Química Fina LTDA ou o par redox, peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), fornecido pela Vetec e ácido ascórbico (*AscA*), fornecido pela Nuclear, todos em qualidade *p. a.*.

Como biosurfatante, foi utilizada a lecitina, com peso molecular médio ponderal de 734 g/gmol, fornecido pela empresa Alfa Aesar. Alternativamente também foi usado o par de emulsificantes Tween 80 e Span 80 fornecidos pela Oxiteno, em qualidade *p. a.*

Como coestabilizador foi utilizado Miglyol 812 fornecido pela Sasol, ou óleo de rícino fornecido pela ViaFarma.

Além disso, Quercetina dihidratada, fornecida pela Natural Pharma, foi utilizada como agente ativo a ser encapsulado.

Vale acrescentar que todos os reagentes acima descritos foram utilizados como recebidos.

Finalmente, a água utilizada como meio contínuo para a miniemulsão foi destilada.

### 3.3 UNIDADE EXPERIMENTAL

Neste item será descrita a unidade experimental que foi utilizada para a realização dos experimentos apresentados neste capítulo. Esta unidade está alocada no Laboratório de Controle de Processos - LCP, do Departamento de Engenharia Química e de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC.

#### 3.3.1 PREPARO DA MINIEMULSÃO

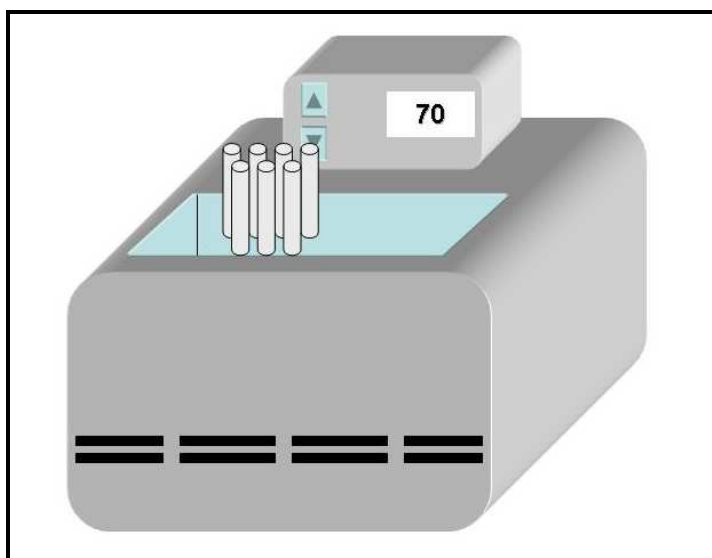
O homogeneizador utilizado para preparar a miniemulsão foi ULTRASONIC DISMEMBRATOR 500 (400W) da Fisher Scientific, constituído por uma sonda, a qual emite ondas de ultra-som que produzem cavitação no sistema, ocasionando assim o rompimento das gotas. A Figura 3.1 mostra o preparo da miniemulsão no ultra-som.



**Figura 3.1** - Preparo da miniemulsão. a) Miniemulsão sendo dispersa no ultra-som. b) Dispersão imersa no banho de gelo. c) Equipamento de ultra-som (ULTRASONIC DISMEMBRATOR 500).

### 3.3.2 POLIMERIZAÇÃO EM MINIEMULSÃO

A unidade experimental utilizada para a produção de nanopartículas é constituída por ampolas de vidro, com volume total de 18 mL com 15 cm de altura e 1 cm de diâmetro, e um banho termostático modelo MQBTCA-100, da marca MicroQuímica, possuindo um sistema de controle proporcional-integral-derivativo (PID), onde as mesmas ficam imersas no decorrer da reação. A Figura 3.2 apresenta a reação em ampolas no banho termostático.



**Figura 3.2** - Reação em ampolas. Banho termostático (MQBTCA-100), contendo as ampolas com as amostras de miniemulsão.

## 3.4 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

Neste item serão apresentados os procedimentos experimentais adotados nas reações de polimerização em miniemulsão visando a formação de nanopartículas poliméricas.

### 3.4.1 PREPARO DA MINIEMULSÃO

Primeiramente foi preparada a fase orgânica (monômero, coestabilizador, surfatante com característica mais hidrofóbica e iniciador organossolúvel) de acordo com as formulações gerais para a síntese de nanocápsulas e nanoesferas poliméricas apresentadas na Tabela 3.1. A formulação detalhada de cada reação será apresentada no Capítulo 4. A fase orgânica foi agitada por 10 minutos com agitador magnético, em seguida foi adicionada à fase aquosa (água e, quando usado, surfatante com característica mais hidrofílica) e a dispersão foi agitada

por mais 5 minutos com agitador magnético. A miniemulsão foi preparada utilizando o dispersor de ultrasom (Fisher Scientific, Sonic Dismembrator Model 500). Para assegurar a eficiência da dispersão se fazem necessários alguns cuidados com as dimensões e o volume do recipiente utilizado na dispersão, pois estes influenciam diretamente no tamanho inicial das gotículas dispersas (ASUA, 2002). Portanto, o recipiente utilizado neste trabalho tem diâmetro e altura de aproximadamente 3 cm e 9 cm, respectivamente. A dispersão da amostra foi realizada por 4 minutos na amplitude de 60%. Para minimizar o aumento de temperatura durante a dispersão por ultra-som, a miniemulsão foi imersa em um banho de gelo. Nas reações realizadas com iniciador hidrossolúvel este foi adicionado dissolvido numa alíquota de água da formulação após o preparo da miniemulsão. Nas reações de polimerização em miniemulsão usando quercetina como agente ativo, a quercetina foi adicionada ao coestabilizador, Miglyol 812 ou óleo de rícino, e em seguida submetida ao ultra-sonificador, e em seguida as reações seguiram a metodologia descrita acima.

**Tabela 3.1** - Formulações ilustrativas das polimerizações de MMA em miniemulsão realizadas para formação de nanocápsulas e de nanoesferas.

Reação	REAGENTES				
	Fase aquosa		Fase orgânica		
	Água (g)	Lecitina (g)	Miglyol 812 (g)	MMA (g)	AIBN (g)
Nanocápsulas	24,00	0,09	3,00	3,00	0,07
Nanoesferas	24,00	0,09	0,06	6,00	0,14

### 3.4.2 POLIMERIZAÇÃO EM MINIEMULSÃO

As reações de polimerização foram realizadas em batelada em ampolas de vidro de 20 ml imersas em banho termostático a temperatura constante de 60 ou 70 °C. Foram retiradas amostras de tempos em tempos (10 em 10 minutos), parando instantaneamente a reação com uma solução de hidroquinona a 1%.

## 3.5 CARACTERIZAÇÃO

Com o objetivo de avaliar a eficácia do processo de polimerização, bem como, as características do polímero obtido, algumas análises qualitativas e quantitativas se tornaram necessárias. A metodologia utilizada em cada uma dessas análises será descrita a seguir.

### 3.5.1 CONVERSÃO GRAVIMÉTRICA

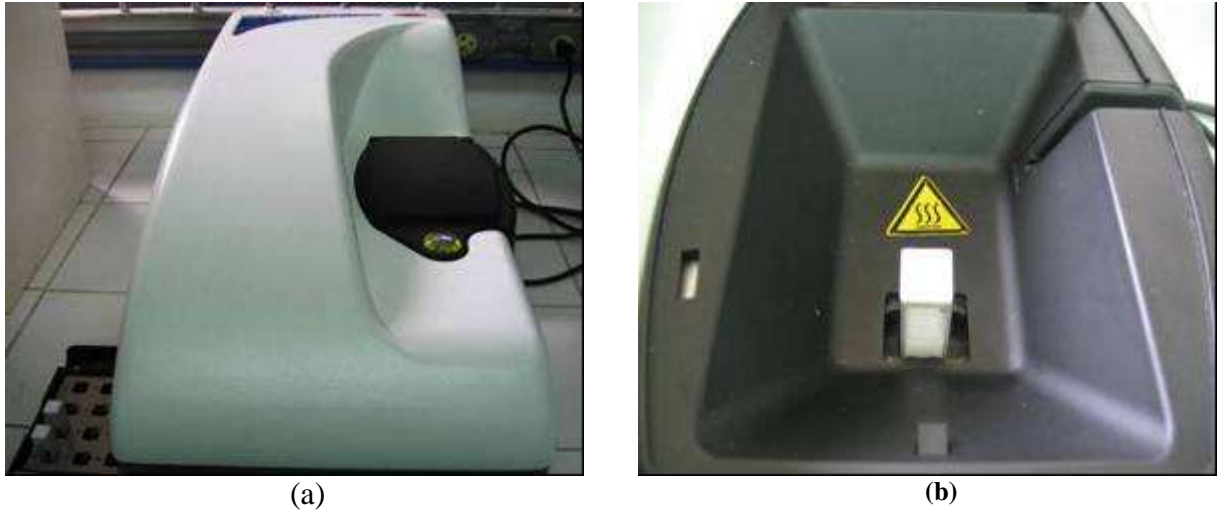
A conversão gravimétrica é a razão entre a massa de polímero presente no reator e a massa de monômero alimentada. A massa de polímero é calculada a partir do resíduo seco obtido pela evaporação de uma amostra de látex em uma estufa por 24 horas a temperatura de 60 °C (com ventilação forçada). Para calcular a massa de polímero é necessário subtrair a massa de hidroquinona sólida adicionada para parar a reação e a fração de sólidos não poliméricos (emulsificante, co-estabilizador e iniciador) presentes no resíduo seco. A velocidade de reação ( $R_p$ ) foi obtida a partir da conversão ( $X$ ).

### 3.5.2 TAMANHO DE PARTÍCULA

A medida do tamanho de partícula foi realizada utilizando equipamento de Dispersão Dinâmica de Luz (ZETASIZER, NANO SERIES) que determina o diâmetro médio das partículas através da taxa de difusão das partículas através do fluido. A amostra é iluminada por um feixe de laser e a luz espalhada pelas partículas é captada por um cabo de fibra ótica colocado em um determinado ângulo e transmitida para o tubo fotomultiplicador e pulso amplificador/discriminador, onde é transformada em um sinal elétrico. Como as partículas mudam de posição no fluido e em respeito às demais devido ao movimento Browniano, estas interferem na intensidade de luz captada pelo detector. As partículas maiores mudam de posição mais devagar, e causam uma lenta flutuação de intensidade, ao contrário das menores, que se movem mais rapidamente e causam rápidas flutuações de intensidade. Estas flutuações na intensidade contêm informações sobre a velocidade de difusão das partículas. Conhecendo-se o coeficiente de difusão com a equação de Stokes-Einstein, obtém-se o tamanho médio das partículas.

Para análise do diâmetro médio das gotas de monômero e das partículas de polímero ( $D_p$ ) 0,5 mL de amostra foram diluídas com água saturada com o respectivo monômero. A Figura 3.3 apresenta o equipamento ZETASIZER NANO S utilizado na análise do tamanho médio de partícula.





**Figura 3.3** - Equipamento de medida de tamanho de partícula. a) ZETASIZER NANO S, b) Amostra de miniemulsão na cubeta de análise.

### 3.5.3 NÚMERO DE PARTÍCULAS

O número de gotas e partículas por grama de látex foi calculado a partir do diâmetro médio das partículas, obtido por Dispersão Dinâmica de Luz (ZETASIZER NANO SERIES) e da conversão obtida por gravimetria. O número de partículas por grama de látex ( $N_p$ ) foi calculado através das Equações 3.1 a 3.3 relacionando os dados de conversão ( $X$ ) e de  $D_p$ .

$$N_p = \left( \frac{V_p^T}{V_{p1}} \right) / M_{Treator} \quad (3.1)$$

Sendo:

$$V_{p1} = \frac{\pi}{6} D_p^3 \quad (3.2)$$

$$V_p^T = \frac{M_M}{\rho_M} + \frac{M_p}{\rho_p} + \frac{M_{co}}{\rho_{co}} = \frac{(1-X)M_M}{\rho_M} + \frac{(X \cdot M_M)}{\rho_p} + \frac{M_{co}}{\rho_{co}} \quad (3.3)$$

Onde  $V_{p1}$  é o volume de uma partícula,  $V_p^T$  o volume total de partículas,  $\rho_M$ ,  $\rho_p$  e  $\rho_{co}$  são as densidades do monômero, do polímero e do coestabilizador e  $M_{Treator}$ ,  $M_M$ ,  $M_p$  e  $M_{co}$  as massas de meio reacional, monômero, polímero e coestabilizador.

### **3.5.4 MORFOLOGIA E DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DE PARTÍCULA**

Amostras finais das reações foram analisadas por microscopia eletrônica de transmissão (TEM - JEOL JEM 2100) para avaliação da morfologia das nanocápsulas e determinação da distribuição do tamanho destas. Para esta análise algumas gotas da amostra diluída a 2% foram pingadas sobre grade de cobre de 300 mesh coberta com Formvar. Após a secagem as amostras foram recobertas com um filme de carbono (*sputter-coating*) para minimizar a degradação do polímero (PMMA) sob o feixe de elétrons. As amostras foram analisadas a 100kV. Para a determinação da distribuição de tamanhos das partículas e o percentual de partículas com morfologia de nanocápsulas foi utilizado o programa Size Meter desenvolvido no LCP-EQA-UFSC, sendo contadas entre 1000 e 2000 partículas para cada reação analisada.

### **3.5.5 DOSEAMENTO DA QUERCETINA**

As amostras finais das reações realizadas na presença de quercetina foram analisadas pelo método de doseamento para quantificar a quercetina remanescente na miniemulsão. Para o doseamento da quercetina total na miniemulsão foram utilizados 1 ml da miniemulsão e dissolvidos em 10 ml de metanol em um balão volumétrico. Essa solução foi preparada com 24 horas de antecedência para permitir o inchamento das nanocápsulas e liberação da quercetina. Em seguida as amostras foram submetidas a uma centrifugação de 4000 rpm durante 1 hora, o sobrenadante foi coletado e a absorbância foi medida para um comprimento de onda de 375nm, comprimento de onda no qual a quercetina foi bem identificada, no espectrômetro UV/VIS (Perkin-Elmer) em 375 nm. As absorbâncias medidas foram comparadas com uma curva de calibração construída com amostras em triplicata na faixa de concentrações de 2,5 a 20 µg/mL para quantificar a quercetina na solução.

## **CAPÍTULO IV**

# **RESULTADOS E DISCUSSÕES**

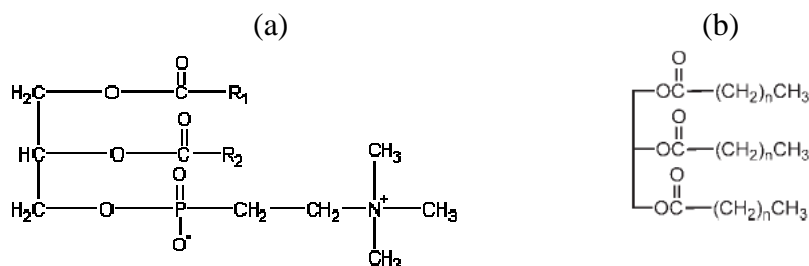
### **4.1 INTRODUÇÃO**

Neste Capítulo serão apresentados resultados da cinética e das propriedades do polímero formado durante reações de polimerização em miniemulsão visando a formação de nanocápsulas poliméricas biocompatíveis. Neste estudo foi avaliado o efeito de diversas variáveis do processo como temperatura, tipo e concentração de monômero (MMA e VAc), coestabilizador (Miglyol 812 e óleo de rícino), iniciador (AIBN, KPS e o sistema de oxirredução composto por peróxido de hidrogênio e ácido ascórbico) e surfatante (lecitina e o par Tween 80 e Span 80).

### **4.2 COMPARAÇÃO ENTRE REAÇÕES PARA OBTENÇÃO DE NANOCÁPSULAS E DE NANOESFERAS POLIMÉRICAS VIA REAÇÕES DE POLIMERIZAÇÃO DE MMA EM MINIEMULSÃO**

Neste item são comparadas as reações de polimerização de metacrilato de metila em miniemulsão visando a obtenção de nanocápsulas e de nanoesferas poliméricas biocompatíveis. O procedimento foi o mesmo nos dois casos, sendo que a diferença foram as concentrações de Miglyol 812 e de monômero. Para a produção das nanocápsulas, além de atuar como coestabilizador, o Miglyol 812 também é responsável pela formação do núcleo líquido da partícula (o MMA é solúvel no Miglyol 812, mas o PMMA não) e, portanto, substitui 50% do monômero em relação a formulação das nanoesferas. Enquanto que nas nanoesferas a função exclusiva do Miglyol 812 é atuar como coestabilizador minimizando a degradação difusional. A Figura 4.1 apresenta as estruturas químicas do surfatante, lecitina, e do coestabilizador, Miglyol 812 que é uma mistura de triglicerídeos de ácidos graxos,

principalmente ácido caprílico (50 a 65%) e cáprico (30 a 45%) saturados, e a Tabela 4.1 apresenta as formulações usadas nas reações apresentadas neste item.



**Figura 4.1** - Estrutura química do surfatante e do coestabilizador utilizados. a) Lecitina; b) Miglyol 812.

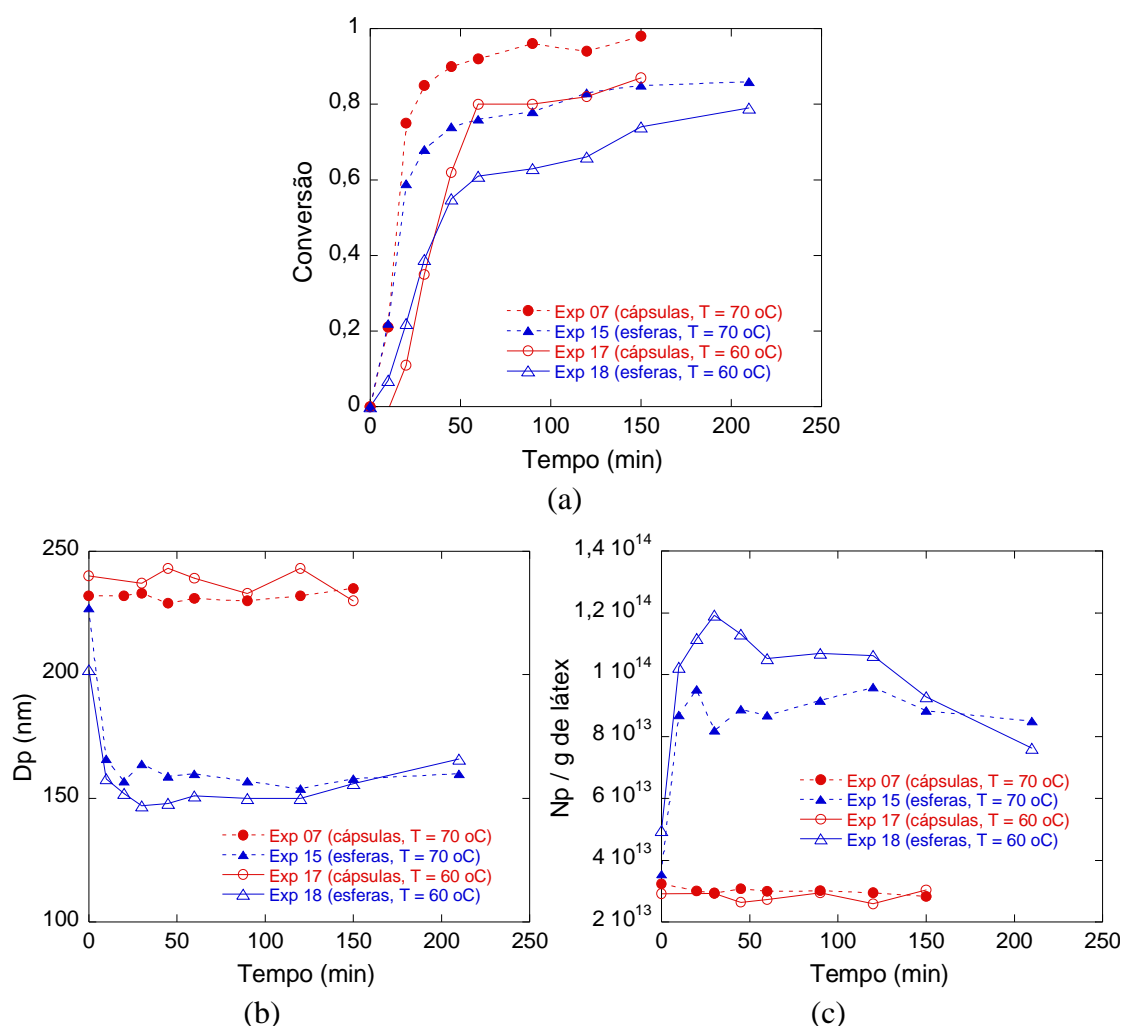
**Tabela 4.1** - Formulações das polymerizações de MMA em miniemulsão realizadas a 60 e 70 °C comparando as reações para formação de nanocápsulas e de nanoesferas.

Reação	Temperatura (°C)	REAGENTES				
		Fase aquosa	Fase orgânica			
		Água (g)	Lecitina (g)	Miglyol 812 (g)	MMA (g)	AIBN (g)
<b>Exp 07, 04</b>	70	24,272	0,092	3,030	3,090	0,076
<b>Exp 15</b>	70	24,040	0,092	0,082	6,148	0,146
<b>Exp 17</b>	60	24,099	0,093	3,009	3,033	0,072
<b>Exp 18</b>	60	24,128	0,091	0,063	6,078	0,143

Na Figura 4.2, apresentada a seguir, são mostradas as evoluções da conversão, do diâmetro médio e do número de partículas poliméricas ao longo de quatro reações em miniemulsão, duas para obtenção de nanocápsulas (Exp 7 e Exp 17) e duas para produção de: nanoesferas (Exp 15 e Exp 18) realizadas a duas temperaturas diferentes (60 e 70 °C), conforme apresentado na Tabela 4.1. Nestas quatro reações foi usada a mesma relação iniciador/monômero.

De acordo com os resultados apresentados nas Figuras 4.2a, no começo das reações as velocidades das reações para produção de nanocápsulas e de nanoesferas realizadas na mesma temperatura não apresentam diferenças acentuadas. Entretanto, observa-se que nos experimentos das nanoesferas, tanto nos experimentos a 70°C quanto nos experimentos a 60 °C são alcançadas conversões mais baixas. Na Figura 4.2a também se observa que a diminuição da temperatura resultou no deslocamento da curva de conversão devido à cinética da reação mais lenta, isso foi observado tanto para as nanocápsulas quanto para as nanoesferas. Entretanto, a diferença de temperatura não afetou o diâmetro médio (Dp) das

partículas nestes experimentos, conforme mostra a Figura 4.2b e o número de partículas, Figura 4.2c. Por outro lado, na Figura 4.2b, fica evidente a grande diferença entre os diâmetros médios das nanoesferas e das nanocápsulas. Este efeito pode ser explicado pela relação Miglyol 812/ MMA que é muito maior nas nanocápsulas. Como a viscosidade do Miglyol 812 (27 a 30 cP a 20 °C) (Ficha técnica Miglyol 812, 2006) é maior do que a viscosidade do MMA (0,53 cP a 20 °C) (BRANDRUP et al., 1999), durante o preparo da miniemulsão a viscosidade das gotas que irão formar as nanocápsulas é maior do que a das gotas que irão formar as nanoesferas, nas quais o Miglyol 812 é usado em pequena quantidade somente como coestabilizador, consequentemente, a taxa de fissão das gotas é maior nas reações para obtenção das nanoesferas do que nas reações para obtenção das nanocápsulas, explicando o maior tamanho destas últimas (Figura 4.2b).

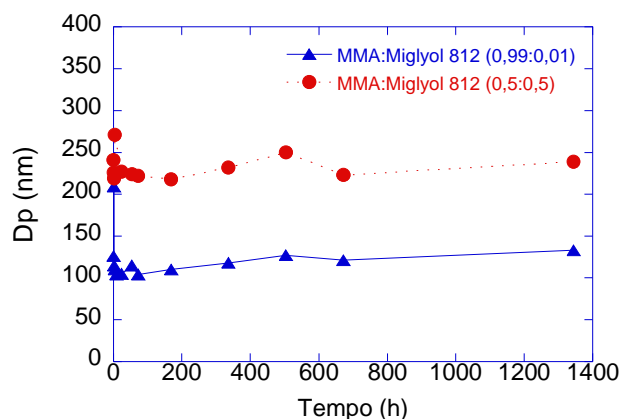


**Figura 4.2** – Comparação das evoluções das propriedades durante as reações em miniemulsão para obtenção de nanocápsulas e de nanoesferas poliméricas. a) Conversão; b) Diâmetro médio das partículas (nm); c) número de partículas / g de látex. Exp 7 e Exp 17 : nanocápsulas e Exp 15 e 18 : nanoesferas.

Na Figura 4.2b também pode ser observado que o diâmetro inicial das gotas nos Exp 15 e Exp 18, reações para obtenção de nanoesferas, são relativamente grandes e depois sofrem uma forte diminuição. Esse comportamento gera a dúvida se nas reações para obtenção das nanoesferas, ao contrário do que ocorre no caso das nanocápsulas, ocorre algum outro tipo de nucleação além da nucleação das gotas. Como o número de partículas nucleadas pelos mecanismos de nucleação micelar e homogênea, indesejados numa polimerização em miniemulsão, é afetado pela temperatura da reação, provavelmente estes dois mecanismos não tiveram participação importante nas reações apresentadas na Figura 4.2, uma vez que na faixa de temperaturas avaliada (60 e 70 °C), a temperatura não afetou o número de partículas. Para esclarecer este ponto foram realizadas novas reações, apresentadas no próximo item, para formação de nanoesferas com diferentes concentrações de iniciador.

Adicionalmente, foram realizados experimentos, apresentados a seguir, para avaliar a estabilidade das miniemulsões preparadas com as formulações para síntese de nanocápsulas (formulações do Exp 04, 07 ou 17, sem iniciador) e de nanoesferas (formulações do Exp 15 ou 18, sem iniciador) poliméricas.

A Figura 4.3 compara a evolução dos diâmetros médios das gotas das miniemulsões com formulações para a síntese de nanoesferas e de nanocápsulas poliméricas. Os resultados apresentados na Figura 4.3 mostram claramente que o diâmetro menor das partículas de polímero no caso das reações para síntese de nanoesferas em relação ao diâmetro das nanocápsulas de polímero (Figura 4.2b) se deve ao menor tamanho das gotas da miniemulsão no caso das nanoesferas (relação MMA:Miglyol 812 = 0,995:0,01) em comparação com o tamanho das gotas da miniemulsão da formulação das nanocápsulas (relação MMA:Miglyol 812 = 0,5:0,5), Figura 4.3.



**Figura 4.3** – Comparação das evoluções do diâmetro médio das gotas da fase orgânica de formulações para síntese de nanoesferas (relação MMA:Miglyol 812 = 0,99:0,01) e de nanocápsulas (relação MMA:Miglyol = 0, 5:0,5) poliméricas.

### 4.3 EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE INICIADOR NAS POLIMERIZAÇÕES DE MMA EM MINIEMULSÃO PARA OBTENÇÃO DAS NANOESFERAS.

Visando verificar se o efeito de redução do tamanho das partículas durante as reações para formação das nanoesferas poliméricas, Figura 4.1d, pode ser atribuído à presença importante de outros mecanismos de nucleação das partículas, além da nucleação das gotas, foram realizadas novas reações para formação das nanoesferas com diferentes concentrações de iniciador, já que a concentração de iniciador afeta o número de partículas formadas pelos mecanismos de nucleação micelar e homogênea, mas não afeta o número de partículas formadas pela nucleação das gotas. A Tabela 4.2 apresenta as formulações usadas nas reações para síntese de nanoesferas usando diferentes concentrações de iniciador apresentadas neste item.

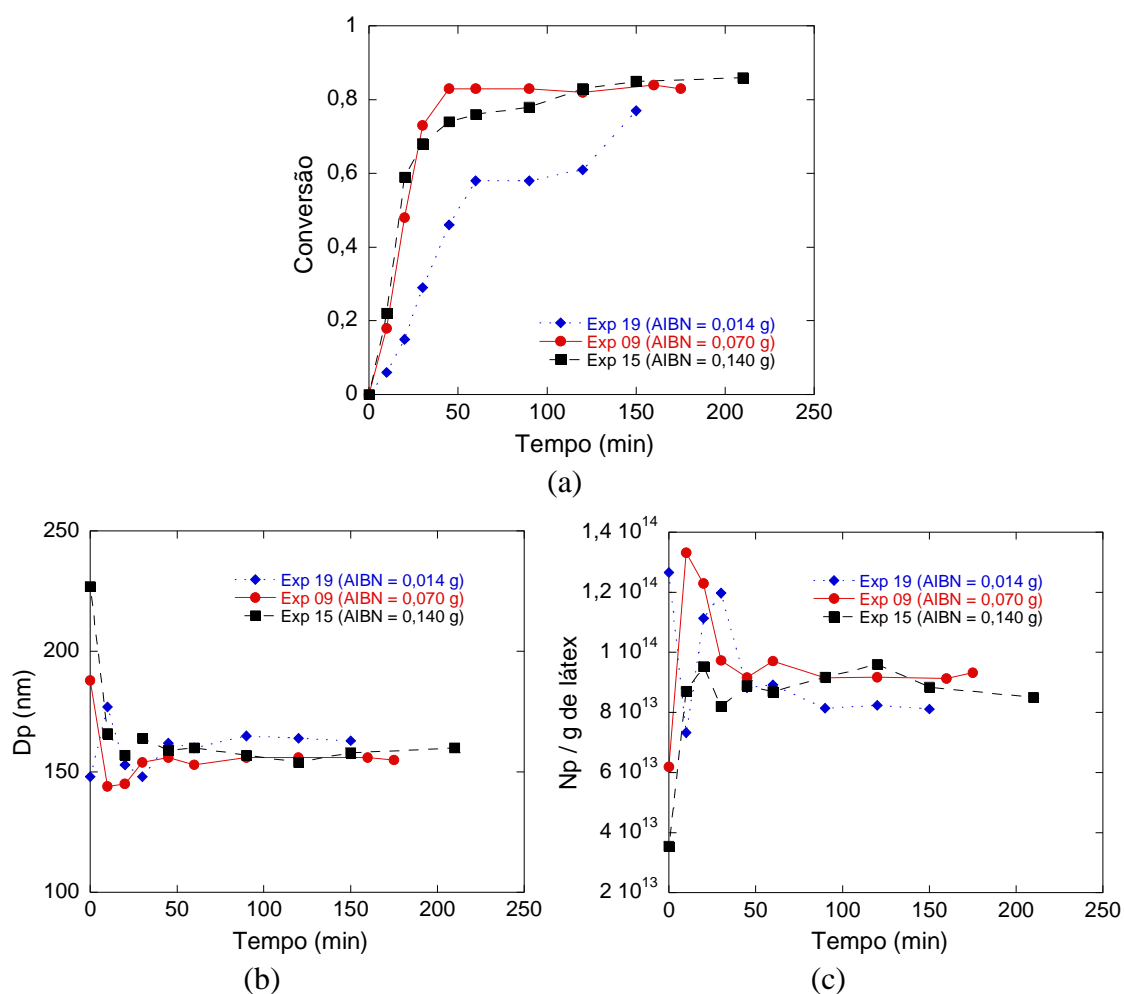
**Tabela 4.2** - Formulações das reações de polimerização de MMA em miniemulsão para formação de nanoesferas usando diferentes concentrações de iniciador.

Reação	REAGENTES				
	Fase aquosa		Fase orgânica		
	Água (g)	Lecitina (g)	Miglyol 812 (g)	MMA (g)	AIBN (g)
<b>Exp 09</b>	24,243	0,092	0,062	6,103	0,074
<b>Exp 15</b>	24,040	0,092	0,082	6,148	0,146
<b>Exp 19</b>	24,030	0,091	0,060	6,048	0,015

Na Figura 4.4, a seguir, são apresentadas as evoluções da conversão, do diâmetro médio e do número de partículas poliméricas ao longo das reações com diferentes quantidades de iniciador (Exp 09, Exp 15 e Exp 19), como mostrado na Tabela 4.2.

Os resultados apresentados nas Figuras 4.4a e 4.4b, mostram que, a concentração de iniciador afeta a velocidade de reação, já que esta é diretamente proporcional a concentração de radicais e, conseqüentemente, de iniciador. Entretanto, os diâmetros médios das partículas são muito parecidos, e, portanto, não são afetados pela concentração do iniciador, como mostra a Figura 4.4b. Isto é um indicativo de que os mecanismos de nucleação na fase aquosa (micelar ou homogênea) não são muito acentuados nestas reações, caso contrário concentrações mais baixas de iniciador (Exp 19) deveriam resultar em partículas maiores. Por

outro lado, a grande diferença entre o tamanho inicial das gotas de monômero destas reações apresentadas na Figura 4.3b mostra claramente a dificuldade da medida do diâmetro inicial das gotas de monômero nas reações para obtenção das nanopartículas, fato também observado em trabalhos da literatura (ASUA, 2002 e DO AMARAL et al., 2006). Nas reações para obtenção das nanocápsulas as gotas apresentam maior viscosidade devido a concentração mais elevada do Miglyol 812 e, conseqüentemente, o erro da medida do tamanho inicial das gotas nestas reações é menor.



**Figura 4.4** – Comparação das evoluções das propriedades durante as reações de nanoesferas usando diferentes quantidades de iniciador. a) Conversão; b) Diâmetro médio das partículas (nm); c) Número de partículas/ g de látex.

A Tabela 4.3 apresenta os valores dos diâmetros iniciais das gotas de monômero ( $D_g$ ) e finais das partículas de polímero ( $D_p$ ) de oito reações em miniemulsão para obtenção de nanocápsulas e de oito reações em miniemulsão para obtenção de nanoesferas. Todos os ensaios apresentados na Tabela 4.3 foram realizados com as mesmas condições de preparação das miniemulsões e com as mesmas quantidades de surfatante, coestabilizador e fração de fase orgânica. De acordo com os resultados apresentados na Tabela 4.3 os valores do desvio



padrão das medidas dos tamanhos das gotas de monômero e das partículas de polímero nas reações para obtenção das nanocápsulas são, respectivamente, 8 e 11 nm, comprovando a confiabilidade destas medidas. Já nas reações para obtenção das nanoesferas, o desvio padrão do tamanho inicial das gotas de monômero foi igual a 30nm, mostrando a dificuldade desta medida inicial no caso das nanoesferas.

Na Tabela 4.3 também são mostrados os valores da razão Dp/Dg destas reações. Na condição ideal de cópia 1 para 1 das gotas de monômero para as partículas de polímero (LANDFESTER et al., 1999), que caracterizaria a ausência de coalescência e degradação difusional e nucleação das partículas exclusivamente por nucleação das gotas de monômero, os valores desta razão deveriam ser 0,97 e 0,93, respectivamente, para as nanocápsulas e para as nanoesferas devido a contração volumétrica durante as reações.

**Tabela 4.3** – Comparação entre os diâmetros iniciais das gotas de monômero (Dg) e finais das partículas de polímero (Dp) de reações em miniemulsão para obtenção de nanocápsulas e de nanoesferas poliméricas.

Nanocápsulas				Nanoesferas			
Reações	Dg (nm)	Dp (nm)	Dp / Dg	Reações	Dg (nm)	Dp (nm)	Dp / Dg
Exp 02	254	243	0,957	Exp 06	218	152	0,697
Exp 03	236	244	1,03	Exp 08	202	157	0,777
Exp 04	229	223	0,974	Exp 09	188	155	0,824
Exp 05	232	256	1,10	Exp10	152	158	1,04
Exp 07	232	235	1,01	Exp11	161	163	1,01
Exp 12	232	247	1,06	Exp 15	227	160	0,705
Exp 14	237	233	0,983	Exp 18	202	166	0,821
Exp 17	240	230	0,958	Exp 19	148	163	1,10
<b>Média</b>	<b>237</b>	<b>239</b>	<b>1,01</b>	<b>Média</b>	<b>187</b>	<b>159</b>	<b>0,872</b>
<b>Desvio padrão</b>	<b>8</b>	<b>11</b>		<b>Desvio padrão</b>	<b>30</b>	<b>5</b>	

## 4.4 EFEITO DA FRAÇÃO DA FASE ORGÂNICA E DA CONCENTRAÇÃO DE SURFATANTE NAS POLIMERIZAÇÕES DE MMA EM MINIEMULSÃO PARA FORMAÇÃO DE NANOCÁPSULAS

A fração de fase orgânica afeta a distância entre as gotas e/ou partículas submicrométricas da miniemulsão, que por sua vez pode influenciar a frequência de colisões e coalescência destas e, conseqüentemente, o tamanho médio das partículas. A Tabela 4.4 apresenta as formulações usadas nas reações apresentadas neste item realizadas com diferentes frações de fase orgânica e concentrações de surfatante.

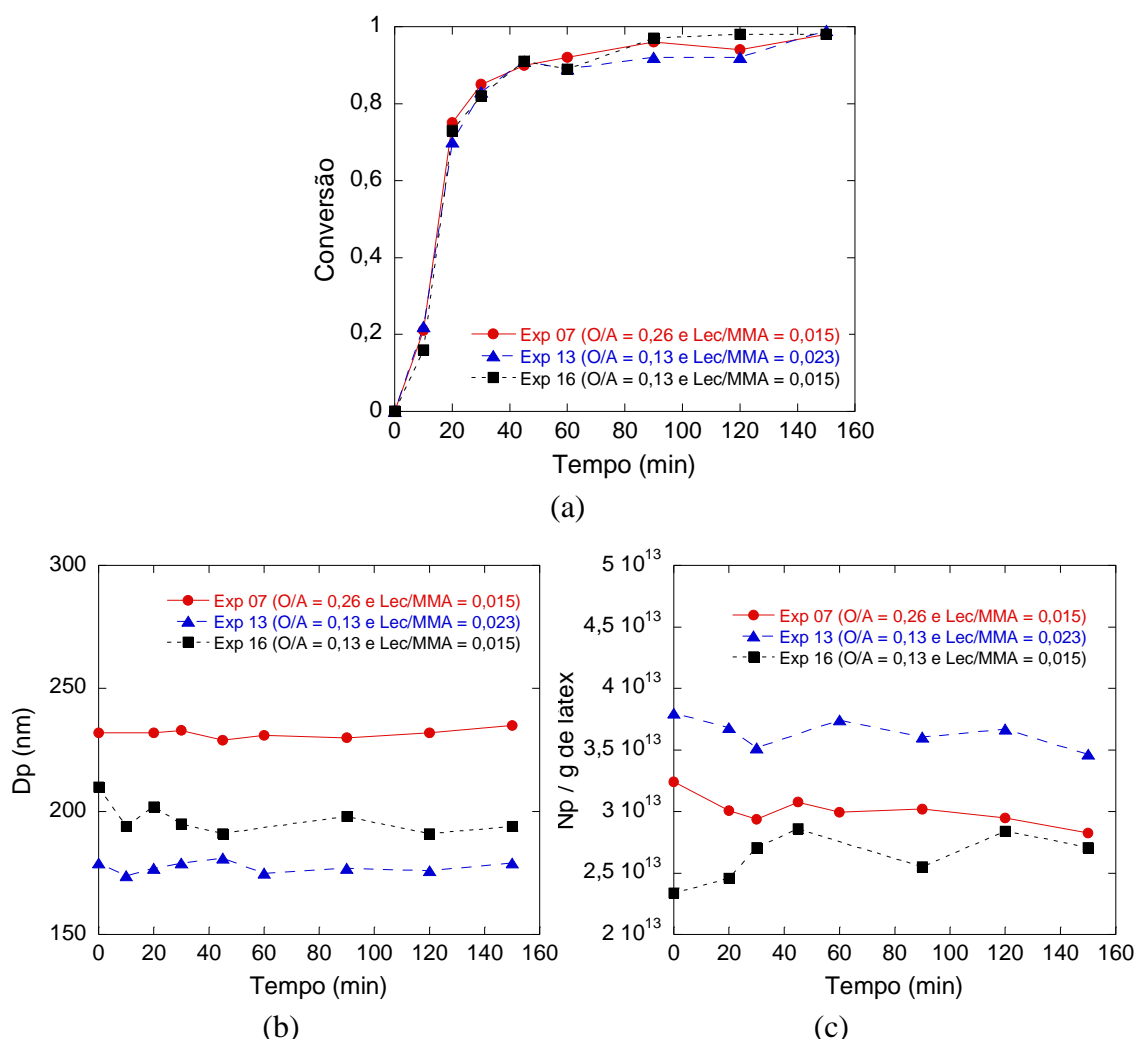
**Tabela 4.4** - Formulações das polimerizações de MMA em miniemulsão realizadas a 70 °C com diferentes frações de fase orgânica e concentrações de surfatante.

Reação	REAGENTES				
	Fase aquosa		Fase orgânica		
	Água (g)	Lecitina (g)	Miglyol 812 (g)	MMA (g)	AIBN (g)
<b>Exp 07, 04</b>	24,272	0,092	3,030	3,090	0,076
<b>Exp 13</b>	24,076	0,072	1,557	1,535	0,036
<b>Exp 16</b>	24,057	0,046	1,566	1,529	0,035

A Figura 4.5 compara as evoluções da conversão, do número de partículas (Np) e do diâmetro médio das partículas (Dp) ao longo de reações em miniemulsão realizadas com diferentes frações de fase orgânica e concentrações de surfatante ( Exp 07, Exp13 e Exp 16, Tabela 4.4).

Na Figura 4.5a pode ser observado que as variações de formulação entre os experimentos não afetaram a cinética das reações. Por outro lado, na Figura 4.5b podem ser observados valores de Dp muito diferentes para cada tipo de formulação. Comparando-se o Exp 16 com o Exp 07 nos quais a relação fase orgânica/ fase aquosa foi menor no Exp 16, mas a relação surfatante/monômero foi mantida igual nas duas formulações, observa-se que no Exp 16 foram formadas partículas menores. Isto se deve à menor concentração da miniemulsão monomérica do Exp 16 resultando na maior distância entre as gotas de monômero e, conseqüentemente, na menor frequência de choques e coalescência entre estas.

Devido à menor fração da fase orgânica foi observado um  $N_p$  / g látex menor no Exp 16, como mostra a Figura 4.5c.



**Figura 4.5** – Comparação das evoluções das propriedades durante as reações usando diferentes relações fase orgânica/fase aquosa (O/A) e relações surfatante/monômero (Lecitina/MMA). a) Conversão; b) Diâmetro médio das partículas (nm); c) Número de partículas/ g de látex.

Comparando os Exp 16 e Exp 13, nos quais a relação fase orgânica/fase aquosa foi mantida igual, mas a relação surfatante/monômero foi maior no Exp 13, observa-se que no Exp 13 foram formadas gotículas menores e, conseqüentemente, Dps menores, Figura 4.5b, e um número de partículas ( $N_p$ ) maior, como mostra a Figura 4.5c. Isto ocorre porque uma quantidade maior de surfatante consegue estabilizar uma área superficial total maior, resultando na formação de gotas de monômero menores.

## 4.5 EFEITO DO TIPO DE MONÔMERO MMA OU VAc NAS POLIMERIZAÇÕES EM MINIEMULSÃO PARA FORMAÇÃO DE NANOCÁPSULAS

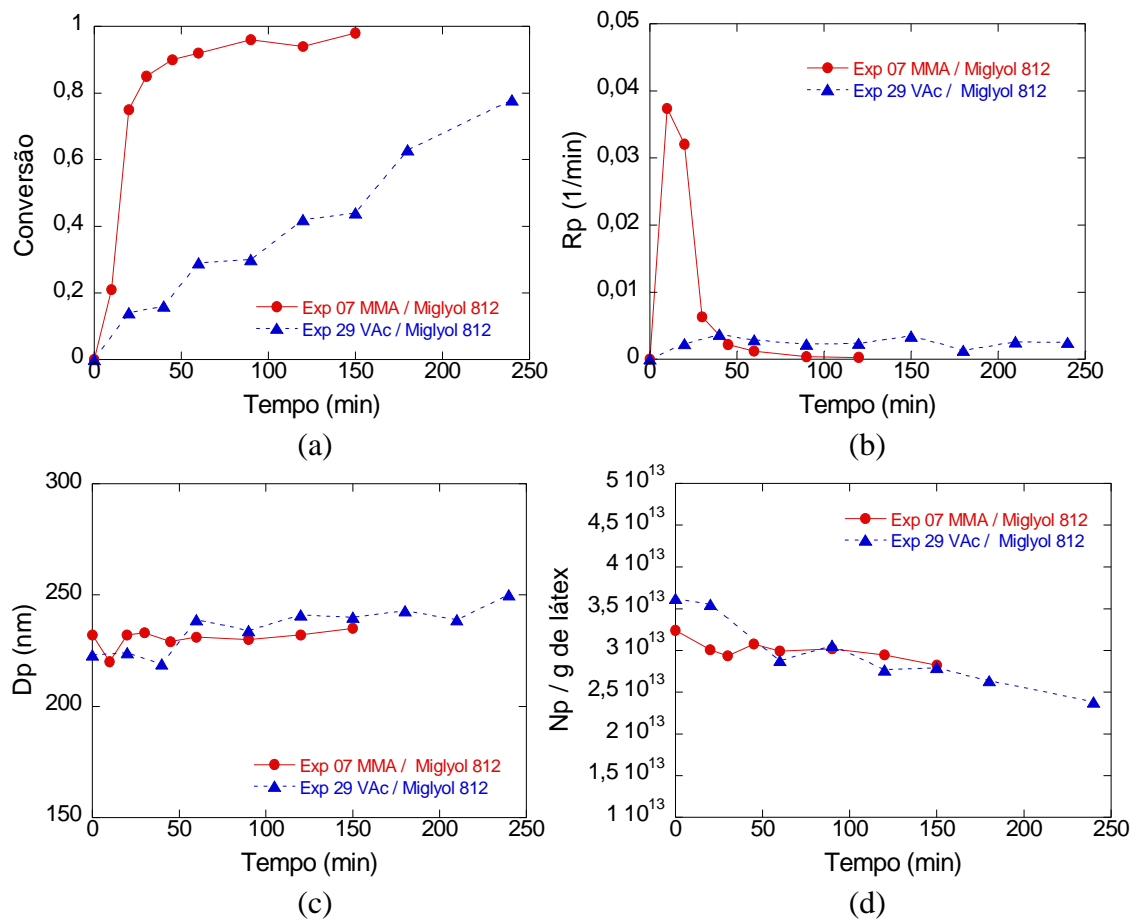
Foram realizadas reações de polimerização de metacrilato de metila e de acetato de vinila em miniemulsão visando a obtenção de nanocápsulas poliméricas biocompatíveis, Tabela 4.5.

**Tabela 4.5** - Formulações das reações de polimerização de metacrilato de metila e de acetato de vinila em miniemulsão realizadas a 70 °C.

Reação	REAGENTES						
	Fase aquosa	Fase orgânica					
	Água (g)	Lecitina (g)	Miglyol 812 (g)	Óleo de rícino (g)	MMA (g)	VAc (g)	AIBN (g)
<b>Exp 07, 04</b>	24,272	0,092	3,030	-	3,090	-	0,076
<b>Exp 29</b>	24,018	0,093	3,010	-	-	3,018	0,069
<b>Exp 39</b>	24,048	0,091	-	3,007	3,009	-	0,071
<b>Exp 41</b>	24,015	0,092	-	3,014	-	3,001	0,069

Para a produção das nanocápsulas o coestabilizador, Miglyol 812 ou óleo de rícino, além de ter função de retardar a degradação difusional (Ostwald ripening), também é responsável pela formação do núcleo líquido da partícula. Portanto, para que ocorra a formação da morfologia de nanocápsulas o monômero deve ser solúvel no coestabilizador, mas o polímero não. Adicionalmente, o polímero deve ser mais hidrofílico que o coestabilizador.

As Figuras 4.6 e 4.7 comparam as evoluções da conversão, diâmetro médio ( $D_p$ ) e número de partículas ( $N_p$ ), além do número médio de radicais por partículas ( $\bar{n}$ ) ao longo de reações de polimerização de MMA e VAc em miniemulsão realizadas, respectivamente, com Miglyol 812 (Figura 4.6) ou óleo de rícino (Figura 4.7) como coestabilizador.

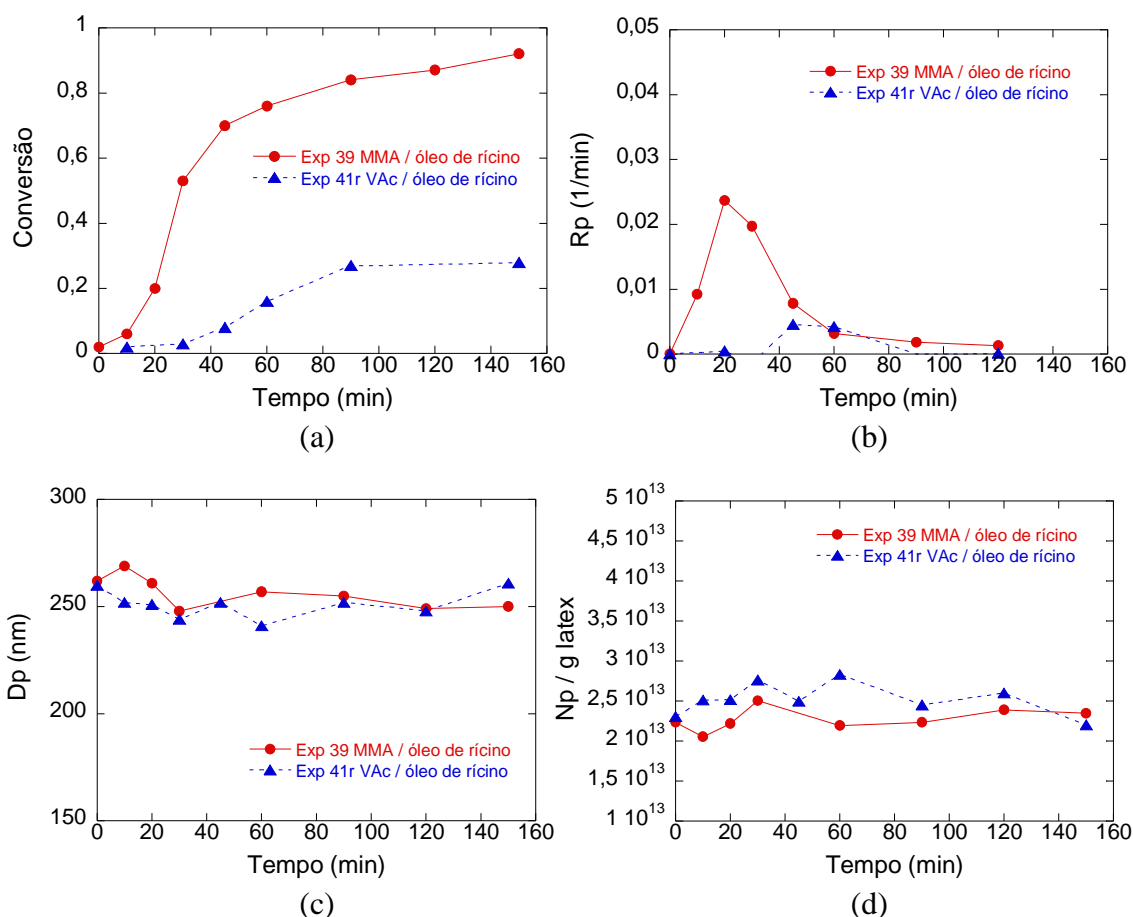


**Figura 4.6** – Comparação das evoluções das propriedades durante as reações de polimerização de MMA e de VAc em miniemulsão usando Miglyol 812 como coestabilizador. a) Conversão; b) Velocidade de reação; c) Diâmetro médio das partículas (nm); d) Número de partículas/ g de látex.

Na Figura 4.6a pode ser observado que, apesar da constante cinética de propagação do VAc ( $k_{p_{VAc}} = 1,17 \cdot 10^7 \text{ cm}^3/(\text{mol s})$  a  $70^\circ\text{C}$  (HUTCHINSON et al., 1994)) ser aproximadamente dez vezes maior do que a do MMA ( $k_{p_{MMA}} = 1,05 \cdot 10^6 \text{ cm}^3/(\text{mol s})$  a  $70^\circ\text{C}$  (BEUERMANN et al., 1997)), as velocidades de reação das reações com VAc (Exp 29) foram muito menores do que as das reações com MMA (Exp 07). Adicionalmente, pode ser observado nas Figuras 4.6b e 4.6c que as diferenças entre os diâmetros médios e números de partículas destas reações não foram relevantes. Consequentemente, analisando a Equação 4.1 conclui-se que esta diferença entre as velocidades de reação deve estar relacionada ao número médio de radicais por partícula polimérica ( $\bar{n}$ ).

$$Rp = \frac{k_p [M]_p \bar{n} Np}{Na} \quad (4.1)$$

Onde  $k_p$  é a constante de propagação do monômero,  $[M]_p$  é a concentração de monômero nas partículas de polímero,  $\bar{n}$  e  $N_p$  são, respectivamente, o número médio de radicais por partícula e o número de partículas de polímero e  $N_A$  é o número de Avogrado.



**Figura 4.7** – Comparação das evoluções das propriedades durante as reações de polimerização de MMA e de VAc em miniemulsão usando óleo de rícino como coestabilizador. a) Conversão; b) Velocidade de reação; c) Diâmetro médio das partículas (nm); d) Número de partículas/ g de látex.

Neste ponto é importante avaliar os efeitos que podem ser responsáveis por estes valores menores de  $\bar{n}$  nas reações do VAc:

- O VAc apresenta maior solubilidade na fase aquosa ( $5,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol/cm}^3$ , Hawkett, 1974, apud van Herk, 2005) do que o MMA ( $1,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol/cm}^3$ , BALLARD et al., 1984), favorecendo a saída de radicais de VAc das partículas de polímero resultando, consequentemente, num menor valor de  $\bar{n}$ .
- A constante cinética das reações de transferência de cadeia adimensional para o monômero ( $C_M = k_{tr,Mc} / k_{p,M}$ ) do VAc é 5 a 17 vezes maior do que a do MMA, conforme apresentado na Tabela 2. E estas reações de transferência de cadeia para o monômero levam à formação de

radicais monoméricos de comprimento unitário menos hidrofóbicos e, portanto, mais aptos para saírem das partículas de polímero reduzindo o valor de  $\bar{n}$ .

- Podem ocorrer reações de transferência de cadeia degradativa ao coestabilizador, mais freqüentes para os radicais do VAc do que para os do MMA, formando espécies pouco reativas e, conseqüentemente, reduzindo  $\bar{n}$ . Para ilustrar, a Tabela 4.6 compara constantes cinéticas de transferência de cadeia de radicais destes monômeros para alguns ésteres de ácidos graxos, sendo os valores para o VAc mais de 100 vezes maior que os do MMA. Este mesmo efeito foi observado na comparação de reações de estireno (S) e VAc em miniemulsão (BATHFIELD et al., 2005). Na Tabela 4.6 também são apresentadas as constantes cinéticas adimensionais de transferência de cadeia de radicais de VAc para os ésteres etílicos dos ácidos caprílico e capróico, visto que o coestabilizador Miglyol 812 é uma mistura de triglicerídeos de ácidos caprílico e ácido cáprico.

**Tabela 4.6** – Constantes de transferência de cadeia adimensionais de radicais MMA e VAc para os respectivos monômeros e para ésteres ácidos, Brandrup et al. (1999).

Monômero ou Solvente	MMA ( $\cdot 10^4$ )	VAc ( $\cdot 10^4$ )	$C_{VAc} / C_{MMA}$
MMA	0,17 - 0,45 <sup>1</sup>		
VAc		2,4 - 2,9 <sup>1</sup>	5,3 - 17
Éster metílico do ác. oleico	1,68 - 8 <sup>2</sup>	217 <sup>2</sup>	27 - 129
Éster metílico do ác. esteárico	0,282 <sup>2</sup>	38,2 <sup>2</sup>	135
Éster etílico do ác. caprílico	-	70 <sup>3</sup>	-
Éster etílico do ác. capróico	-	65 <sup>3</sup>	-

<sup>1</sup>Determinado a 70 °C; <sup>2</sup>determinado a 60 °C; <sup>3</sup>determinado a 50 °C.

Outra possibilidade seria alguma limitação difusional das reações de iniciação e/ou de propagação decorrente da separação de fases nestas reações para formação de nanocápsulas poliméricas. Entretanto, como a temperatura de transição vítrea do PVAc (25 a 39 °C, BRANDRUP et al., 1999) é menor do que a temperatura de reação (70 °C) e também muito inferior a do PMMA (105 °C, BRANDRUP et al., 1999), este efeito não é provável.

Para verificar o efeito do tipo de coestabilizador na cinética foram realizadas reações com óleo de rícino como coestabilizador (Figura 4.7). Estas reações apresentaram o mesmo comportamento, redução acentuada da velocidade de reação do VAc em comparação com o MMA e valores muito próximos do tamanho médio e número de partículas. Entretanto, as reações com óleo de rícino como coestabilizador apresentaram velocidades de reação menores

do que nas reações com Miglyol 812. Adicionalmente, nas reações com óleo de rícino foram formadas partículas um pouco maiores e, conseqüentemente, um número menor destas. Este menor número de partículas nas reações com óleo de rícino pode, eventualmente, ajudar a explicar a velocidade de reação menor nestas reações. O efeito do uso destes dois diferentes tipos de coestabilizadores será discutido de forma mais detalhada no próximo item.

A Tabela 4.7 apresenta os valores dos diâmetros iniciais das gotas de monômero ( $D_g$ ) e finais das partículas de polímero ( $D_p$ ) de reações de MMA e de VAc em miniemulsão. Para as reações com MMA a razão  $D_p/D_g$  variou entre 0,95 e 1,0 e o desvio em relação ao valor teórico ( $D_p/D_g^t = 0,97$  devido a contração volumétrica) foi de  $\pm 3,5\%$ , valor dentro do erro experimental das medidas de  $D_g$  e  $D_p$ . Este resultado indica que as nanocápsulas de MMA foram formadas na condição ideal de cópia 1 para 1 das gotas de monômero para as partículas de polímero (LANDFESTER et al, 1999), situação caracterizada pela ausência de coalescência e degradação difusional e nucleação das partículas exclusivamente por nucleação das gotas de monômero.

**Tabela 4.7** – Comparação entre os diâmetros iniciais das gotas de monômero ( $D_g$ ) e finais das partículas de polímero ( $D_p$ ) de reações em miniemulsão para obtenção de nanocápsulas poliméricas (PMMA e PVAc).

MMA/Miglyol 812				
Reações	$D_g$ (nm)	$D_p$ (nm)	$D_p / D_g$	Desvio*
				$D_p/D_g$ (%)
Exp 02	254	243	0,96	-1,0
Exp 04	229	223	0,97	0,0
Exp 07	232	235	1,0	3,1
MMA/Óleo de rícino				
Exp 39	262	250	0,95	-2,1
Exp 40	256	255	1,0	3,1
VAc/Miglyol 812				
Exp 23	243	264	1,1	14,6
Exp 26	226	262	1,2	25,0
Exp 29	223	250	1,1	14,6

\*Em relação ao valor teórico  $D_p/D_g^t = 0,97$  para o MMA e  $D_p/D_g^t = 0,96$  para o VAc.

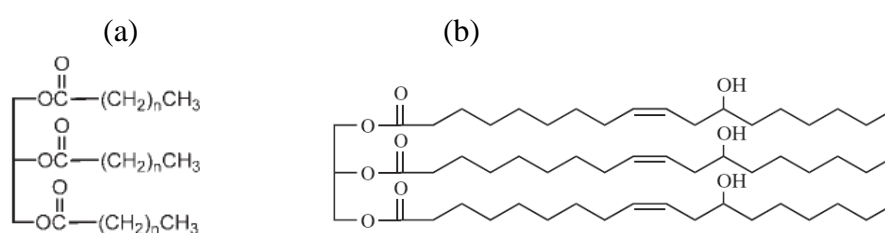
Porém, para as reações com VAc o desvio em relação ao valor teórico ( $D_p/D_g^t = 0,96$ ) chegou até 25%, sendo sempre positivo. Este resultado indica que nas reações com VAc



ocorreu um aumento do diâmetro médio das partículas durante as reações devido a coalescência entre partículas e/ou degradação difusional das gotas de monômero. Os resultados para as reações de polimerização de VAc com óleo de rícino como coestabilizador não foram apresentados na Tabela 4.7 devido a baixa conversão final destas reações, abaixo de 30%, conforme pode ser verificado na Figura 4.6.

## 4.6 EFEITO DO TIPO DE COESTABILIZADOR MIGLYOL 812 OU ÓLEO DE RÍCINO NAS POLIMERIZAÇÕES DE MMA EM MINIEMULSÃO PARA FORMAÇÃO DE NANOCÁPSULAS – ENCAPSULAÇÃO DE QUERCETINA

A Figura 4.8 apresenta as estruturas químicas dos coestabilizadores avaliados neste trabalho. O Miglyol 812 é uma mistura de triglicerídeos de ácidos graxos, principalmente ácido caprílico (50 a 65%) e cáprico (30 a 45%) saturados, enquanto que o óleo de rícino é um triglicerídeo no qual 83,6 a 90% das cadeias de ácidos graxos é composta por ácido ricinoleico (Narine e Kong, 2005), que por sua vez contém o grupo hidroxila e uma insaturação.



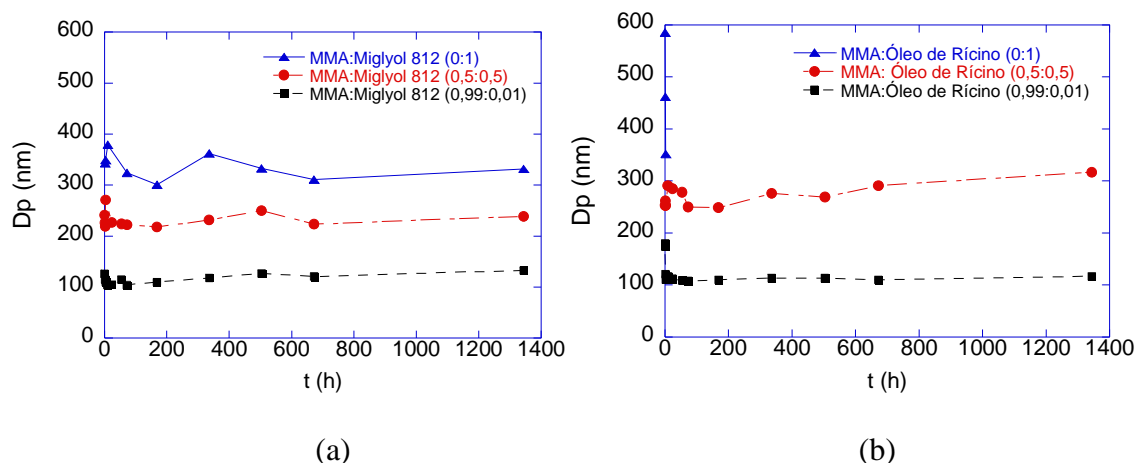
**Figura 4.8** - Estrutura química dos coestabilizadores utilizados. a) Miglyol 812; b) Óleo de rícino.

Inicialmente foram realizados testes de estabilidade com ambos os coestabilizadores, variando as concentrações de coestabilizador na miniemulsão de acordo com as formulações apresentadas na Tabela 4.8.

**Tabela 4.8** – Formulações usadas nas avaliações das evoluções do diâmetro médio das gotas da fase orgânica usando diferentes tipos de coestabilizador (Miglyol 812 ou óleo de rícino) e relações monômero:coestabilizador.

Reagentes	Formulações (g)					
	Miglyol 812			Óleo de rícino		
Água	24,00	24,00	24,00	24,00	24,00	24,00
Lecitina	0,090	0,090	0,090	0,090	0,090	0,090
Miglyol 812	6,013	3,004	0,062	-	-	-
Óleo de rícino	-	-	-	6,021	3,024	0,062
MMA	-	3,079	6,047	-	3,017	5,995
AIBN	0,069	-	-	0,068	-	-

A Figura 4.9 apresenta os resultados destes testes de estabilidade sendo avaliadas as evoluções dos diâmetros médios das gotas das miniemulsões por um período de 8 semanas. Primeiramente, pode ser observado na Figura 4.9 que as miniemulsões permaneceram relativamente estáveis durante 8 semanas, exceto aquelas preparadas exclusivamente com óleo de rícino, que além do maior tamanho inicial, já perderam a estabilidade antes de completadas 4 horas de teste. Isto provavelmente pode ser atribuído ao caráter menos hidrofóbico do óleo de rícino em comparação com o Miglyol 812 visto que o óleo de rícino apresenta o grupo hidroxila na sua estrutura molecular. É importante destacar, entretanto, que nas formulações empregadas nas reações de polimerização em miniemulsão o coestabilizador sempre é usado juntamente com o monômero, e neste caso as miniemulsões preparadas com óleo de rícino e MMA nas proporções para a formação de nanoesferas (relação MMA:coestabilizador = 0,99:0,01) ou de nanocápsulas (relação MMA:coestabilizador = 0, 5:0,5) permaneceram estáveis durante o período de avaliação. No caso da formulação das nanoesferas, devido a concentração reduzida de coestabilizador, o tipo do coestabilizador não teve um efeito acentuado no tamanho médio e na estabilidade das gotas da miniemulsão. No caso da formulação para a síntese das nanocápsulas o Miglyol 812 resultou na formação de gotas um pouco menores, com redução de aproximadamente 20 % em relação ao diâmetro médio das gotas formadas com o óleo de rícino. Este efeito pode ser atribuído a maior viscosidade do óleo de rícino (980 cP a 20 °C) (SCHOLZ e SILVA, 2008) em relação a do Miglyol 812 (27 a 30 cP a 20 °C) (Ficha técnica Miglyol 812, 2006).



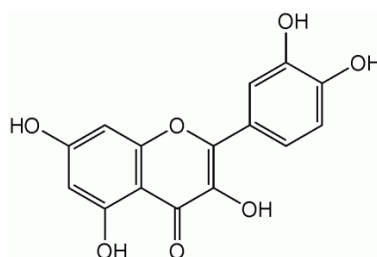
**Figura 4.9** – Comparação das evoluções do diâmetro médio das gotas da fase orgânica (monômero e coestabilizador) a) MMA e Miglyol 812; b) MMA e óleo de rícino.

A Tabela 4.9 apresenta as formulações de quatro reações de polimerização de MMA em miniemulsão, duas usando como hidrófobo o Miglyol 812 e duas usando como hidrófobo o óleo de rícino, realizadas com e sem Quercetina, um flavonóide natural com propriedades antioxidantes.

**Tabela 4.9** - Formulações das reações de polimerização de metacrilato de metila em miniemulsão com diferentes hidrófobos, Miglyol e Óleo de Rícino.

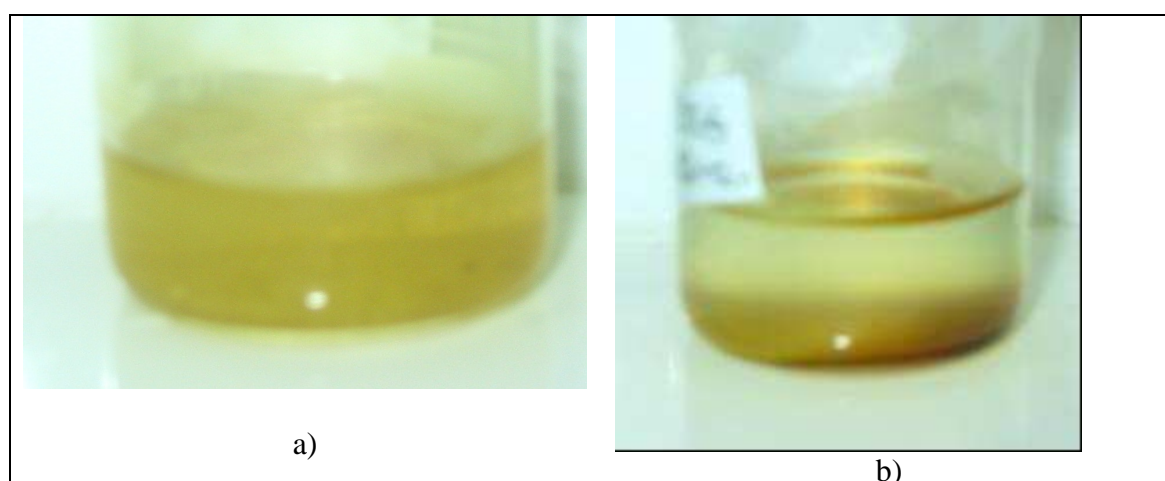
Reação	REAGENTES						
	Fase aquosa		Fase orgânica				
	Água (g)	Lecitina (g)	Miglyol 812 (g)	Óleo de rícino (g)	MMA (g)	AIBN (g)	Quercetina (g)
Exp 07, 04	24,272	0,092	3,030	-	3,090	0,076	-
Exp 39	24,048	0,091	-	3,007	3,009	0,071	-
Exp 40	24,015	0,096	-	3,039	3,033	0,070	0,030
Exp 12	24,055	0,096	3,018	-	3,068	0,082	0,030

A Figura 4.10 apresenta a estrutura química da Quercetina.



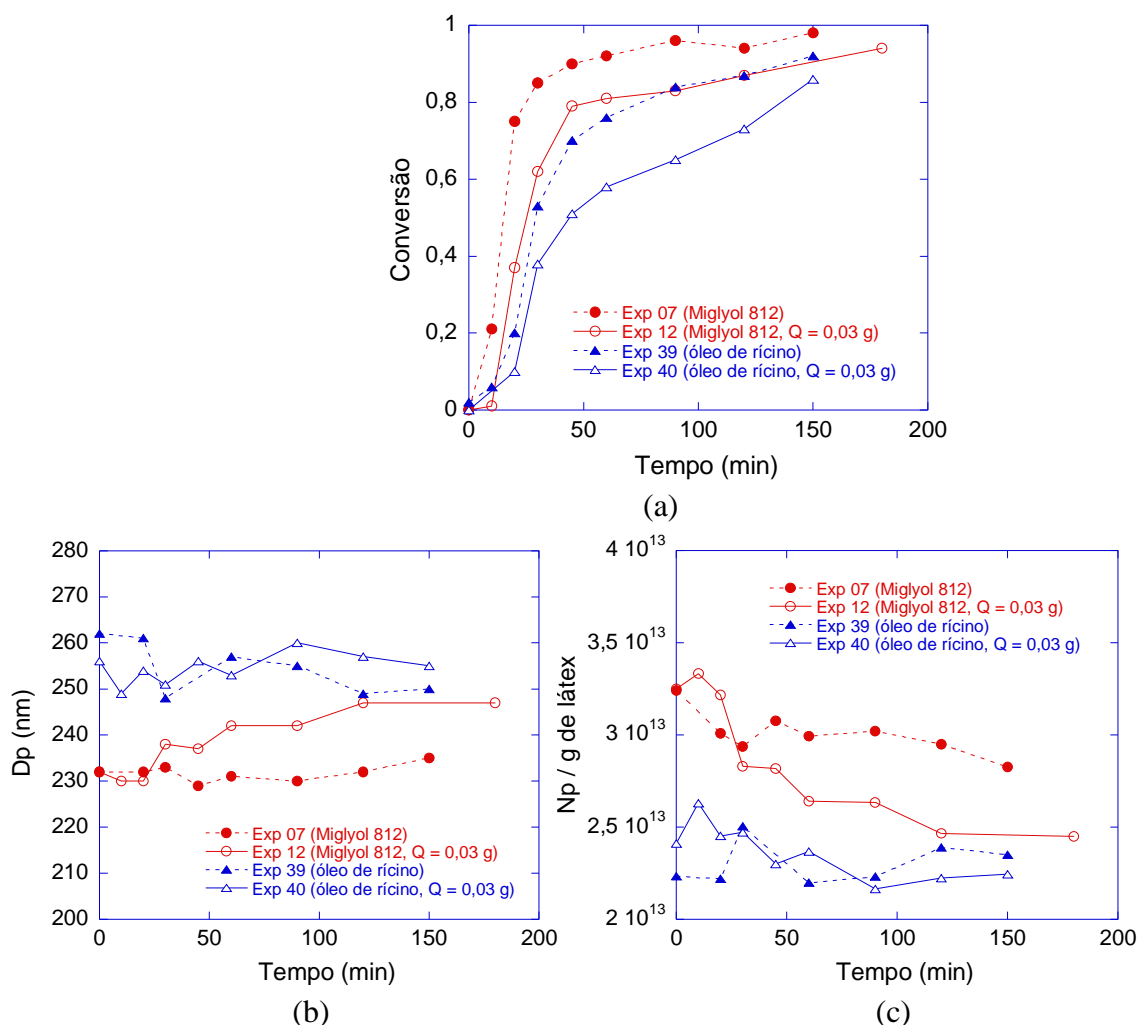
**Figura 4.10** - Estrutura química da Quercetina.

Nas reações com Quercetina esta deve se encontrar preferencialmente no co-estabilizador, já que o mesmo será o carreador do agente ativo. Portanto, foram realizados alguns testes de dispersão da Quercetina no coestabilizador (Miglyol 812) e no monômero (MMA). Para tanto foram preparadas várias amostras com 0,03 g de Quercetina em 10 g de Miglyol 812 e outras com 0,03 g de Quercetina em 10 g de MMA. Quando a dispersão foi preparada via agitação magnética por até 90 minutos foi observada a precipitação parcial da Quercetina na amostra com Miglyol 812 e a precipitação quase total da Quercetina na amostra com MMA, indicando uma maior afinidade da Quercetina com o Miglyol 812 do que com MMA. Em seguida os testes foram repetidos realizando a dispersão através da sonda de ultrassom por 2 minutos com amplitude de 60%. Nas amostras com Miglyol 812 não foi observada a formação de precipitado num período de até 24 horas após a dispersão (duração total do teste), indicando que a sonificação foi eficiente na dispersão da Quercetina no Miglyol 812. A Figura 4.11 mostra as fotografias destas amostras.



**Figura 4.11** – Amostras dos testes de dispersão a) Quercetina no Miglyol 812 e b) Quercetina no MMA.

Na Figura 4.12, apresentada a seguir, são mostradas as evoluções da conversão, do diâmetro médio e do número de partículas poliméricas ao longo de quatro reações em miniemulsão, duas usando como hidrófobo o Miglyol 812 (Exp 7 e Exp 12) e duas usando como hidrófobo o óleo de rícino (Exp 39 e Exp 40), realizadas com e sem Quercetina, conforme apresentado na Tabela 4.9.



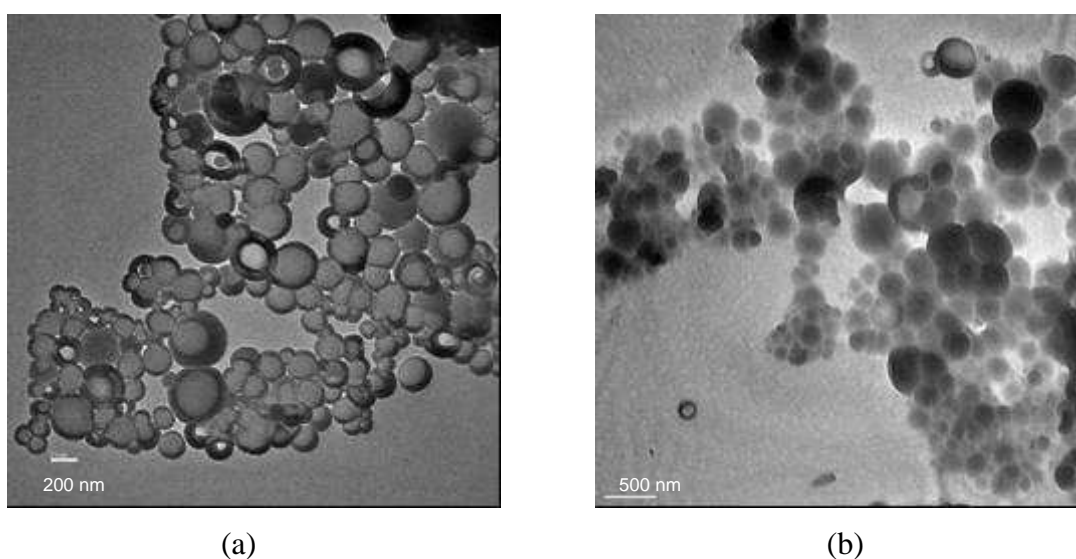
**Figura 4.12** – Comparação das evoluções das propriedades durante as reações de polimerização de MMA em miniemulsão usando Miglyol 812 ou óleo de rícino como coestabilizador. a) Conversão; b) Diâmetro médio das partículas (nm); c) Número de partículas/ g de látex.

De acordo com os resultados apresentados nas Figuras 4.12a, se observa que a cinética da reação foi mais lenta quando se usou o óleo de rícino (Exp 39 e Exp40) como hidrófobo em relação ao Miglyol 812 (Exp 07 e Exp12). Uma possível explicação conforme pode ser observado na Figura 4.8 com as estruturas químicas dos coestabilizadores avaliados neste trabalho, o Miglyol 812 é uma mistura de triglicerídeos de ácidos graxos saturados, enquanto que o óleo de rícino é um triglicerídeo de ácidos graxos insaturados. Portanto, além das reações de transferência de cadeia para o coestabilizador, no caso do óleo de rícino os radicais também podem reagir com as duplas ligações presentes nas cadeias de ácido ricinoleico dando origem a radicais de carbono quaternário menos reativos. Adicionalmente, a cinética ficou mais lenta em ambas as formulações, reações com Miglyol 812 e com óleo de rícino como hidrófobo, quando se encapsulou a Quercetina (Exp 12 e Exp 40). Isso se deve, provavelmente, à reação dos radicais do iniciador e dos radicais poliméricos com a

Quercetina, provocando uma leve inibição no início da reação e tornando a reação um pouco mais lenta e com uma conversão menor do que nos experimentos sem Quercetina (Exp 07 e Exp 39).

Nas Figuras 4.12b e 4.12c, pode-se observar que os tamanhos médios das partículas,  $D_p$ , ficaram maiores e o número de partículas,  $N_p$ , menores quando foi usado óleo de Rícino como hidrófobo, Exp 39 e Exp 40. Este mesmo efeito, atribuído a maior viscosidade do óleo de rícino (980 cP a 20 °C) (SCHOLZ e SILVA, 2008) em relação a do Miglyol 812 (27 a 30 cP a 20 °C) (Ficha técnica Miglyol 812, 2006), também foi observado na evolução do diâmetro médio das gotas durante as avaliações da estabilidade das miniemulsões preparadas com estes dois coestabilizadores (Figura 4.9).

A Figura 4.13a apresenta a morfologia das nanocápsulas formadas nas reações de polimerização de MMA em miniemulsão usando Miglyol 812 como coestabilizador (Exp 04). Pode ser observado que houve a formação preferencial da morfologia de nanocápsulas em detrimento da formação indesejada de nanoesferas sólidas. Por outro lado, nas reações de polimerização de MMA em miniemulsão usando óleo de rícino como coestabilizador, Exp 39 (Figura 4.13b), poucas partículas apresentaram a morfologia de nanocápsulas. Isto possivelmente pode ser atribuído à maior hidrofiliçidade do óleo de rícino devido à presença de grupos hidroxila na sua estrutura molecular (Figura 4.8b). Convém mencionar que este resultado foi confirmado pelo preparo e análise de uma nova grade de TEM com uma amostra desta reação.



**Figura 4.13** – Morfologia (TEM) das nanopartículas formadas nas reações de polimerização de MMA em miniemulsão. a) com Miglyol 812 como coestabilizador (Exp 04), b) com óleo de rícino como coestabilizador (Exp 39).

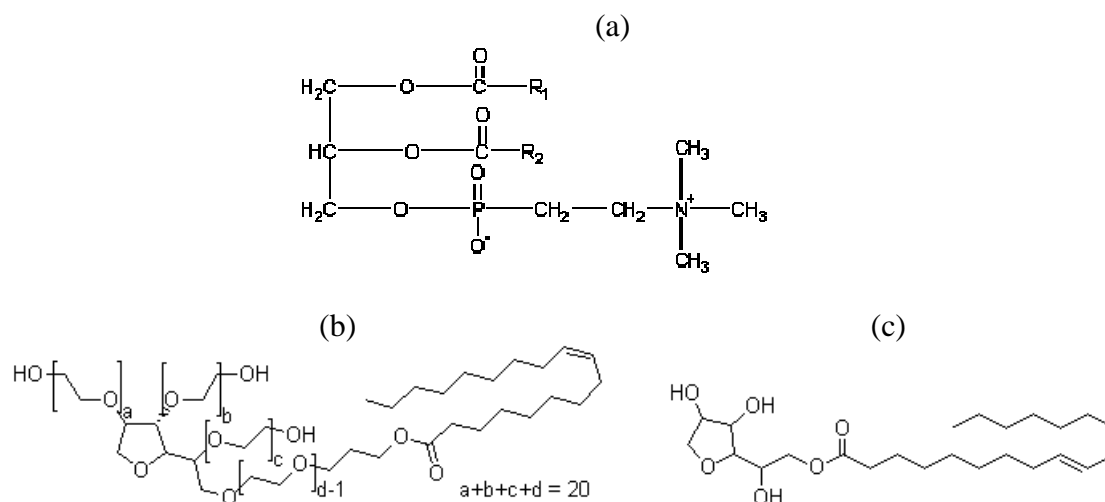
## 4.7 EFEITO DO TIPO DE SURFATANTE NAS POLIMERIZAÇÕES DE MMA EM MINIEMULSÃO PARA FORMAÇÃO DE NANOCÁPSULAS

Nesta etapa do trabalho foi verificado o efeito do uso de outro tipo de sistema de surfatantes biocompatíveis, Tween 80 e Span 80, ao invés da lecitina nas reações de polimerização de MMA em miniemulsão visando a formação de nanocápsulas poliméricas. Para tanto, inicialmente foram realizadas reações com diferentes concentrações destes dois surfatantes, Tabela 4.10, para avaliar o seu efeito sobre a cinética da polimerização de MMA em miniemulsão e sobre o tamanho final das partículas.

**Tabela 4.10** - Formulações das reações de polimerização de MMA em miniemulsão realizadas a 70 °C com diferentes quantidades de surfatante – Tween 80 e Span 80.

LÁTEX	REAGENTES					
	Fase aquosa			Fase orgânica		
	Água (g)	Tween 80 (g)	Span 80 (g)	Miglyol 812 (g)	MMA (g)	AIBN (g)
Exp 22	24,031	0,070	0,070	3,030	3,064	0,072
Exp 25	24,088	0,237	0,098	3,103	3,152	0,070
Exp 27	24,017	0,329	0,126	3,026	3,030	0,069
Exp 28	24,190	0,138	0,048	3,005	3,029	0,070

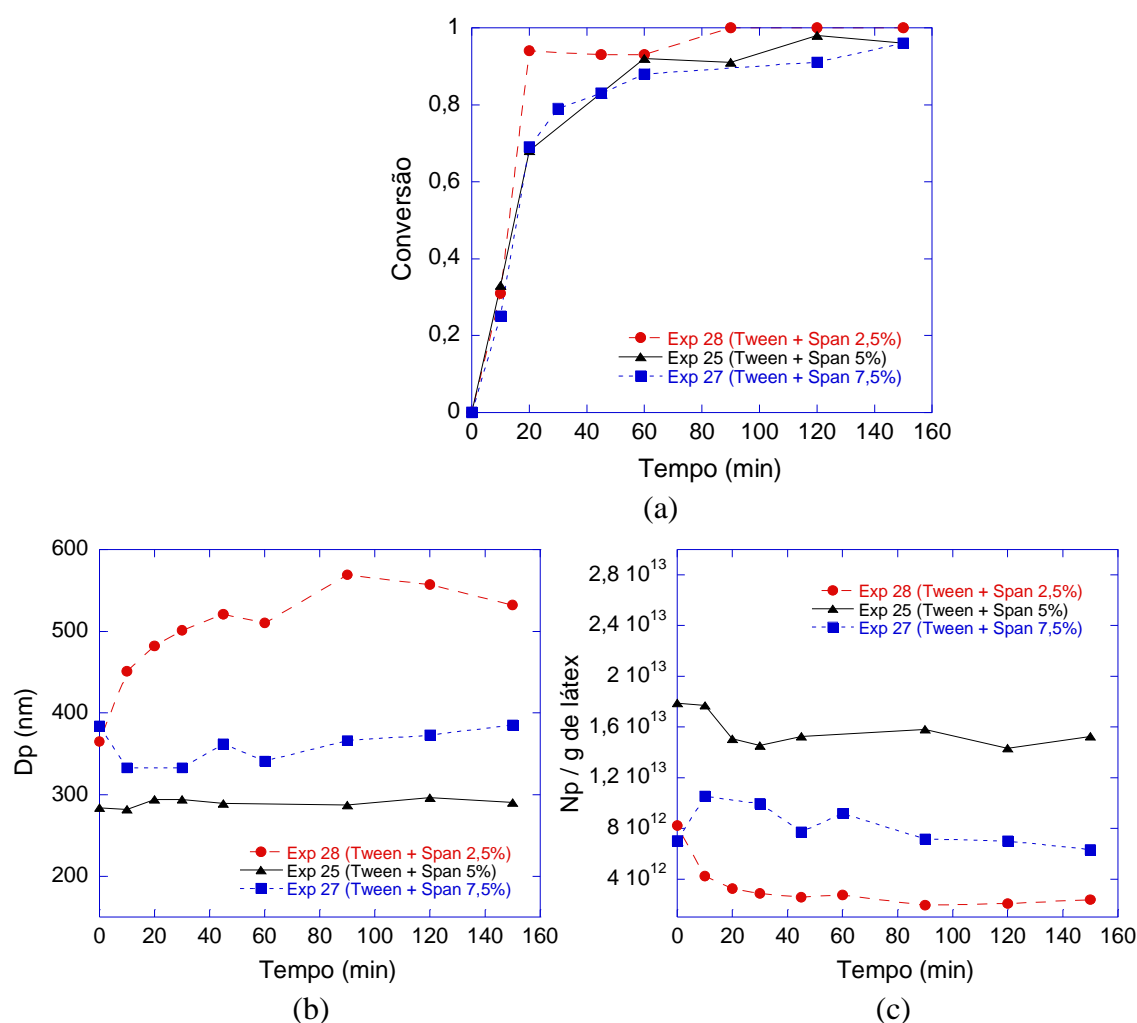
A Figura 4.14 apresenta as estruturas químicas dos surfatantes, lecitina e o par Tween 80 e Span 80, comparados nesta etapa do trabalho.



**Figura 4.14** - Estrutura química dos surfatantes utilizados. a) Lecitina; b) Tween 80; c) Span 80.

No primeiro experimento realizado desta série, Exp 22, foi usada a mesma concentração molar de Tween 80 e Span 80, 50% em massa de cada, que nas reações com lecitina. Entretanto, nessas condições a miniemulsão ficou completamente instável indicando que a quantidade de surfatante usada não foi suficiente para estabilizar as nanogotas. Nas reações seguintes (Exp25, Exp27 e Exp 28) foi aumentada a quantidade total de surfatante (Span 80 e Tween 80) e a relação entre os dois foi calculada para resultar em um valor de HLB - *Hydrofile-lypofile balance* (médio igual a 12, sendo que o HLB individual do Span 80 é 4,3 e do Tween 80 é 15 (Boletim Técnico Oxiteno, 2003).

Na Figura 4.15, apresentada a seguir, são mostradas as evoluções da conversão, do diâmetro médio e do número de partículas poliméricas para diferentes concentrações de surfatante Tween 80 e Span 80. Foram realizadas reações com 2,5%, 5% e 7,5% da combinação de surfatantes em relação a fase orgânica, com um HLB médio de 12.



**Figura 4.15** – Comparação das evoluções das propriedades durante as reações usando diferentes concentrações de surfatantes (Tween 80 e Span 80). a) Conversão; b) Diâmetro médio das partículas Dp (nm); c) Número de partículas Np / g de látex.



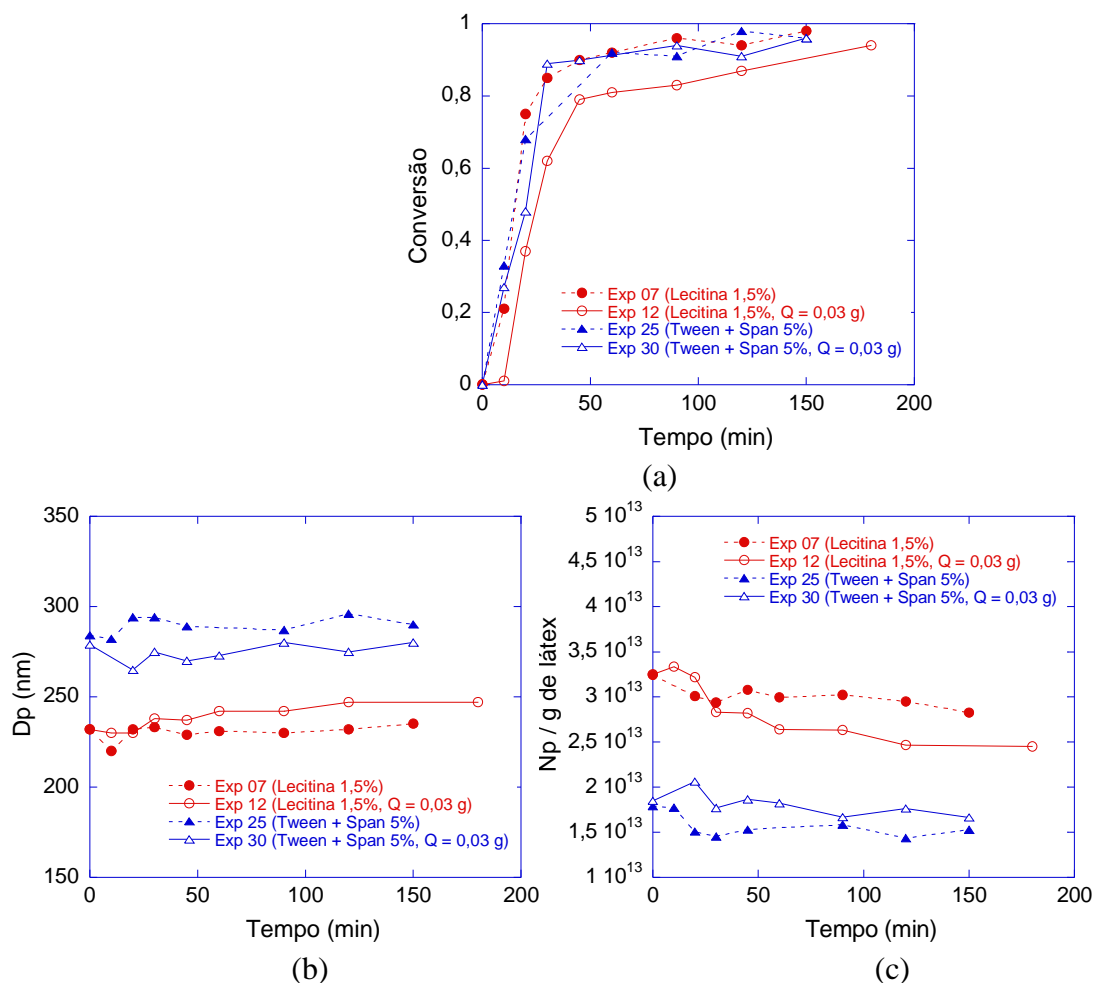
Os resultados apresentados nas Figuras 4.15a mostram que as velocidades das reações não foram afetadas pela concentração de surfatante. Por outro lado, a Figura 4.15b mostra claramente a influência da concentração de surfatante sobre o diâmetro médio das partículas. O Exp 28 com concentração mais baixa de surfatante, conforme esperado apresentou maior Dp, aumentando durante a reação, e menor Np. Isso mostra que a quantidade de surfatante usada não foi suficiente para estabilizar as partículas e que estas coalesceram formando partículas com Dps maiores. Por outro lado, no Exp 27, com concentração mais elevada de surfatante era esperado um Dp menor do que no Exp 25, mas isso não aconteceu, o Dp do Exp 25 foi menor, Figura 4.12b, e o Np foi maior, como mostrado na Figura 4.15c. Uma possível explicação para este comportamento é o aumento da viscosidade da fase dispersa com o aumento da concentração de SPAN 80 que apresenta um HLB baixo e, consequentemente, tem maior afinidade com a fase dispersa (orgânica).

A partir dos resultados apresentados na Figura 4.15, escolheu-se a concentração de 5% da combinação de surfatantes em relação a fase orgânica, com um HLB médio de 12, para dar continuidade as reações. A Tabela 4.11, a seguir, apresenta as formulações usadas nas reações realizadas com diferentes tipos de surfatantes (Lecitina e Tween 80/Span 80), com e sem Quercetina na obtenção de nanocápsulas poliméricas biocompatíveis, via polimerização de metacrilato de metila em miniemulsão.

**Tabela 4.11** - Formulações das reações de polimerização de metacrilato de metila em miniemulsão realizadas a 70 °C com diferentes tipos de surfatante – Tween 80 e Span 80 ou lecitina, com e sem Quercetina.

LÁTEX	REAGENTES							
	Fase aquosa		Fase orgânica					
	Água (g)	Lecitina (g)	Tween 80 (g)	Span 80 (g)	Miglyol 812 (g)	MMA (g)	AIBN (g)	Quercetina (g)
<b>Exp 07, 04</b>	24,272	0,092	-	-	3,030	3,090	0,076	-
<b>Exp 12</b>	24,055	0,096	-	-	3,018	3,068	0,082	0,030
<b>Exp 25</b>	24,088	-	0,237	0,098	3,103	3,152	0,070	-
<b>Exp 30</b>	24,016	-	0,220	0,098	3,035	3,026	0,074	0,030

Na Figura 4.16, a seguir, são apresentadas as evoluções da conversão, do diâmetro médio e do número de partículas poliméricas ao longo das reações com diferentes surfatantes e com Quercetina (Exp 07, Exp 12, Exp 25 e Exp 30), como mostrado na Tabela 4.11.



**Figura 4.16** – Comparação das evoluções das propriedades durante as reações usando diferentes tipos de surfatantes (Tween 80 e Span 80 ou lecitina) com e sem Quercetina. a) Conversão; b) Diâmetro médio Dp (nm); c) Número de partículas Np / g de látex.

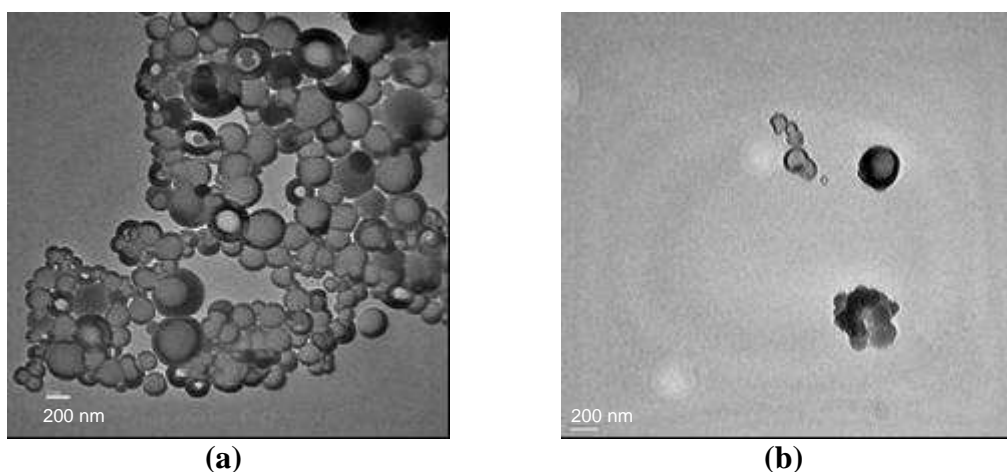
De acordo com os resultados apresentados nas Figuras 4.16a, as reações realizadas com Quercetina (Exp 12 e Exp 30) foram mais lentas, principalmente a reação com lecitina (Exp 12), mostrando que houve uma inibição/retardo no início da reação. Isto pode ser explicado pela ação anti-oxidante da Quercetina, podendo reagir com os radicais formados pela degradação do iniciador ou com os radicais poliméricos. Adicionalmente, as reações realizadas com Tween 80 e Span 80 como surfatantes apresentaram velocidades de reação muito próximas com as das reações com lecitina. Entretanto, para os diferentes surfatantes utilizados o diâmetro médio (Dp) das partículas foi afetado, conforme mostra a Figura 4.16b e a Tabela 4.12, fica evidente a diferença entre os diâmetros médios dos experimentos com Lecitina e com Tween 80 e Span 80. Nesse caso pode ser observado que a lecitina foi mais eficiente na estabilização das nanogotas/nanopartículas, pois mesmo utilizando uma quantidade menor, em torno de 0,092 g (0,00013 mol) nos Exp 07, Exp 04 e Exp 12, ela

conseguiu estabilizar melhor a miniemulsão com tamanhos de partículas (Dp) menores do que aquelas formadas nas reações Exp 25 e Exp 30 com Tween 80 e Span 80 nas quais foram utilizadas aproximadamente 0,23 g de Tween 80 e 0,098 g de Span 80 (0,000364 mol). Adicionalmente, pode ser observado que a presença de Quercetina não afetou de forma acentuada o tamanho médio das partículas nestas reações.

**Tabela 4.12** – Comparação entre os diâmetros finais das partículas de polímero (Dp) de reações em miniemulsão para obtenção de nanocápsulas poliméricas realizadas com diferentes tipos de surfatantes (Tween 80 e Span 80 ou lecitina) com e sem Quercetina.

REAÇÃO	Observações	Dp (nm)
Exp 07	Lecitina (1,5 %)	235
Exp 12	Lecitina (1,58 %) Com Quercetina	247
Exp 25	T80 + S80 (5,35 %)	290
Exp 30	T80 + S80 (5,25 %) Com Quercetina	280

Finalmente, a Figura 4.17 compara as micrografias das partículas formadas com estes diferentes tipos de surfatantes. Nesta figura pode ser observado que a lecitina, além formar partículas menores (Tabela 4.12), também resultou na formação de um percentual mais elevado de partículas com a morfologia de nanocápsulas do que o sistema de surfatantes Tween 80 e Span 80. (Neste trabalho este resultado é ilustrado com uma micrografia de cada reação, entretanto foram avaliadas mais de 10 micrografias de cada reação).



**Figura 4.17** – Morfologia (TEM) das nanocápsulas formadas nas reações de polimerização de MMA em miniemulsão com diferentes surfatantes. a) Lecitina (Exp 04) e b) Tween 80 e Span 80 (Exp 25).

## 4.8 EFEITO DA RELAÇÃO MMA/MIGLYOL 812 NAS POLIMERIZAÇÕES DE MMA EM MINIEMULSÃO PARA FORMAÇÃO DE NANOCÁPSULAS – ENCAPSULAÇÃO DE QUERCETINA

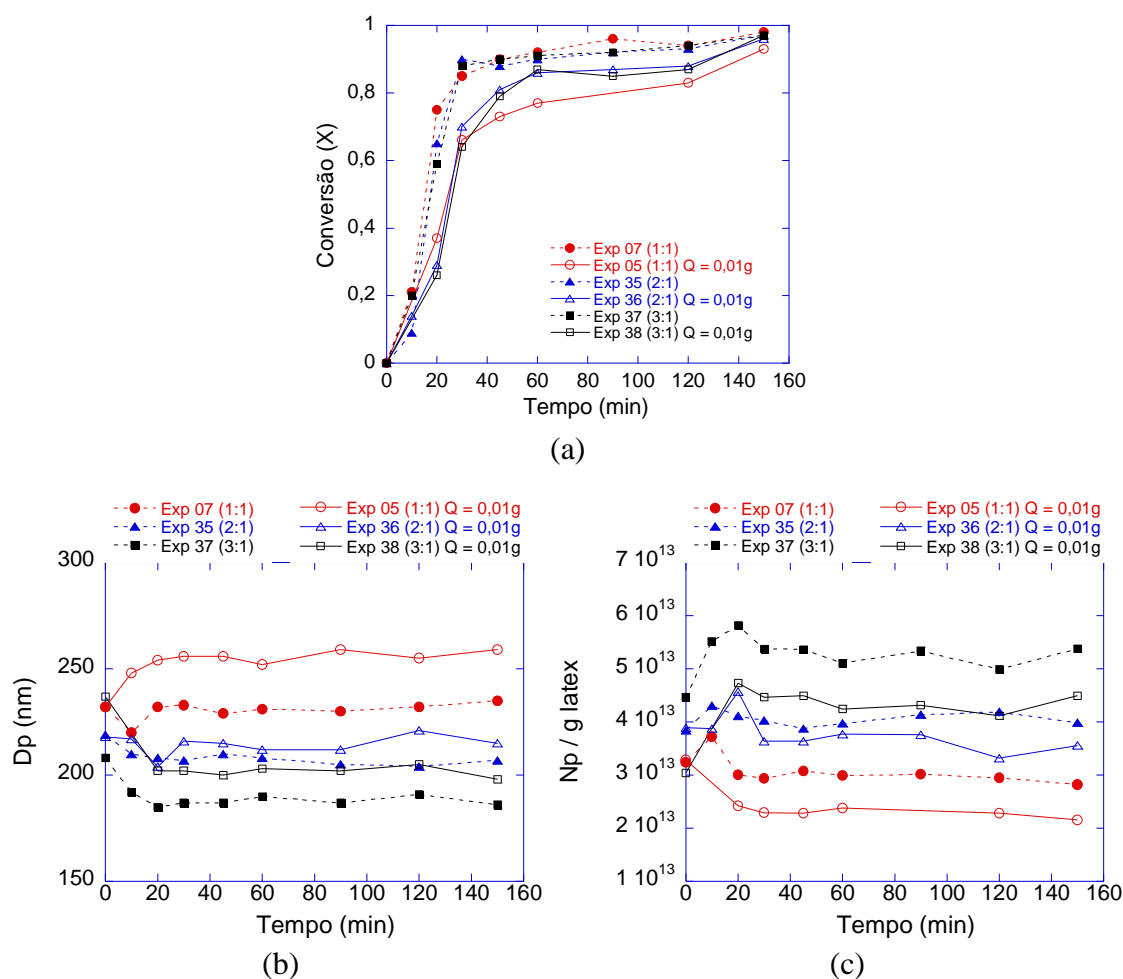
Nesta etapa do trabalho foi estudado o efeito do uso de diferentes quantidades relativas de monômero e de coestabilizador, com e sem Quercetina, no tamanho e na espessura da casca das partículas formadas pela polimerização em miniemulsão do metacrilato de metila via radicais livres. A seguir, na Tabela 4.13, seguem as formulações usadas para esses experimentos.

**Tabela 4.13** - Formulações das reações de polimerização de MMA em miniemulsão realizadas a 70 °C com diferentes relações de MMA/Miglyol 812 e Quercetina.

Reação	REAGENTES					
	Fase aquosa		Fase orgânica			
	Água (g)	Lecitina (g)	Miglyol 812 (g)	MMA (g)	AIBN (g)	Quercetina (g)
<b>Exp 05</b>	24,142	0,094	3,156	3,043	0,075	0,010
<b>Exp 07, 04</b>	24,272	0,092	3,030	3,090	0,076	-
<b>Exp 35</b>	24,028	0,090	2,010	4,010	0,070	-
<b>Exp 36</b>	24,047	0,092	2,012	4,002	0,071	0,011
<b>Exp37</b>	24,199	0,093	1,518	4,508	0,069	-
<b>Exp 38</b>	24,052	0,092	1,518	4,532	0,071	0,010

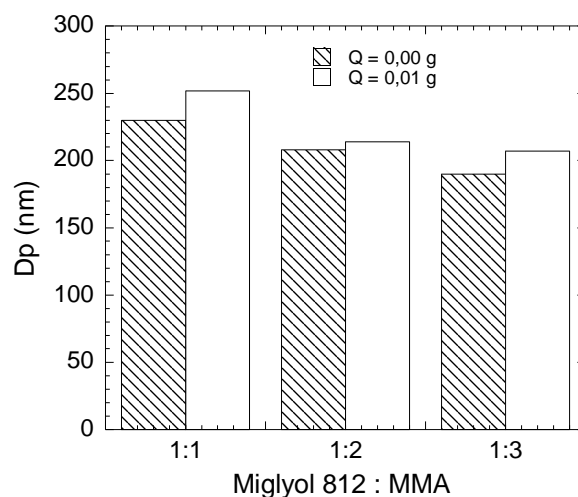
A Figura 4.18 compara as evoluções da conversão, do diâmetro médio das partículas ( $D_p$ ) e do número de partículas ( $N_p$ ) por grama de látex durante as reações em miniemulsão realizadas com diferentes relações de MMA/Miglyol 812 com e sem Quercetina.

Na Figura 4.18a pode ser observado que a relação MMA/Miglyol 812 não afetou a cinética das reações. Os experimentos realizados com Quercetina, entretanto, foram mais lentos do que os experimentos sem Quercetina, indicando que por ser um anti-oxidante a Quercetina pode ter reagido com os radicais presentes no meio reacional.



**Figura 4.18** – Comparação das evoluções das propriedades durante as reações usando diferentes relações monômero/hidrófobo (MMA/Miglyol 812). a) Conversão; b) Diâmetro médio das partículas  $D_p$  (nm); c) Número de partículas  $N_p$  / g de látex.

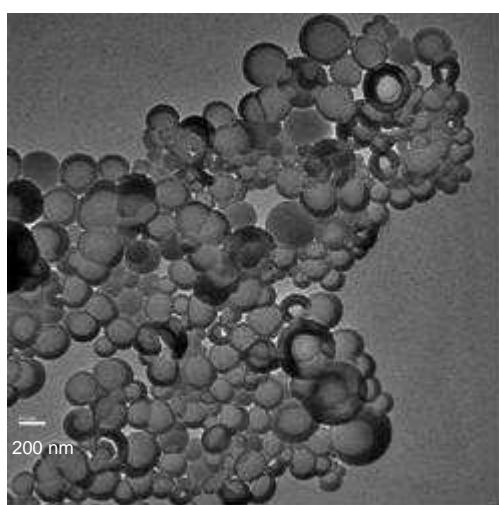
Em relação aos dados dos diâmetros médios das partículas, Figura 4.18b, pode ser observado que maiores relações MMA/Miglyol 812 resultaram em partículas poliméricas menores, conforme destacado na Figura 4.19. Este resultado provavelmente se deve a menor viscosidade da fase dispersa, facilitando o rompimento das gotas, no caso das reações com relações MMA/Miglyol 812 mais elevadas, já que a viscosidade do MMA (0,53 cP a 20 °C) (BRANDRUP et al., 1999) é muito menor do que a do Miglyol 812 (27 a 30 cP a 20 °C) (Ficha técnica Miglyol 812, 2006). Comparando-se os experimentos com Quercetina, Exp 05, Exp 36 e Exp 38 e os experimentos sem Quercetina, Exp 07, Exp 35 e Exp 37, observa-se que em todos os experimentos o  $D_p$  foi ligeiramente maior para os experimentos com Quercetina, Figura 4.18b. Os valores de  $N_p$ , Figura 4.18c, seguiram tendências inversamente proporcionais a  $D_p$ , conforme esperado. Portanto, na Figura 4.18c pode-se observar que os experimentos com Quercetina resultaram em  $N_p$  / g de látex menores do que os experimentos sem Quercetina.



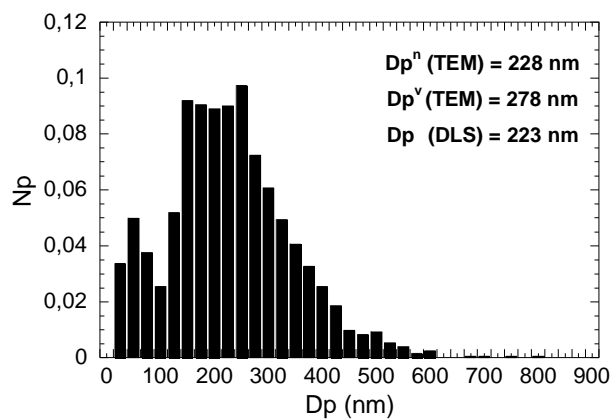
**Figura 4.19** – Comparação dos diâmetros médios finais das partículas de polímero sintetizadas nas reações usando diferentes relações hidrófobo/monômero (Miglyol 812 / MMA) com e sem Quercetina.

Nas Figuras 4.20 e 4.21 são apresentadas as morfologias e as distribuições dos tamanhos das nanopartículas sintetizadas nos experimentos realizados, respectivamente, com relação MMA/Miglyol 812 igual a 1:1 e 3:1 sem Quercetina (Exp 04 e Exp 37). Nos dois casos pode ser observada a formação de partículas com morfologia de nanocápsulas, entretanto a relação MMA/Miglyol 812 é igual a 1:1 favorece a formação de nanocápsulas em relação MMA/Miglyol 812 igual a 3:1.

Em relação à distribuição de tamanhos das nanocápsulas determinadas a partir da contagem de mais de 2000 partículas de cada uma das reações, Figuras 4.20b e 4.21b, pode ser observado que a reação realizada com a relação mais elevada MMA/Miglyol 812 resultou em distribuição mais estreita e de partículas menores.

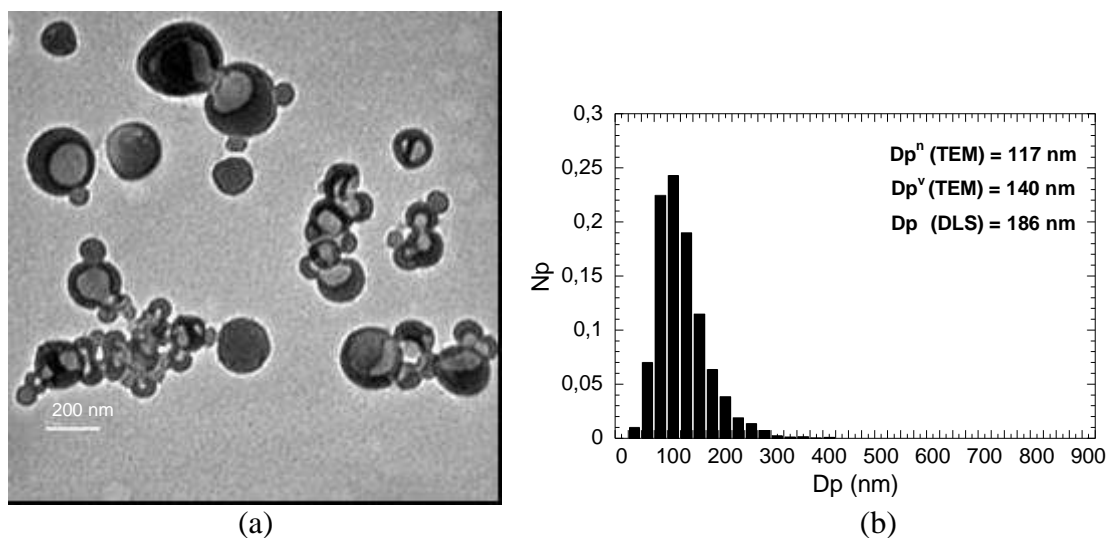


(a)



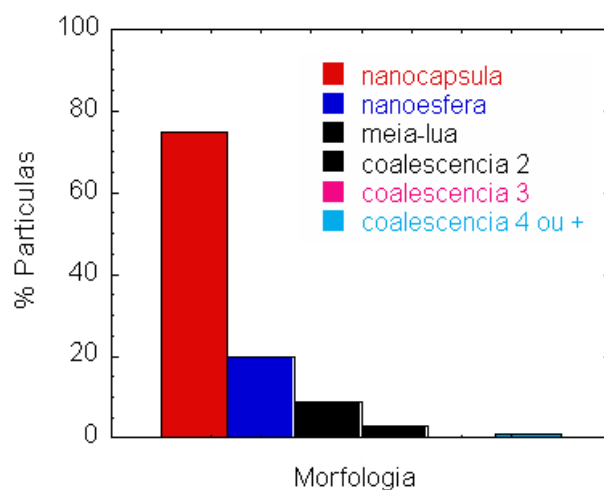
(b)

**Figura 4.20** – Morfologia (TEM) e distribuição de tamanhos das nanocápsulas formadas nas reações de polimerização de MMA em miniemulsão com relação MMA/Miglyol 812 igual a 1:1 (Exp 04).



**Figura 4.21** – Morfologia (TEM) e distribuição de tamanhos das nanocápsulas formadas nas reações de polimerização de MMA em miniemulsão com relação MMA/Miglyol 812 igual a 3:1 (Exp 37).

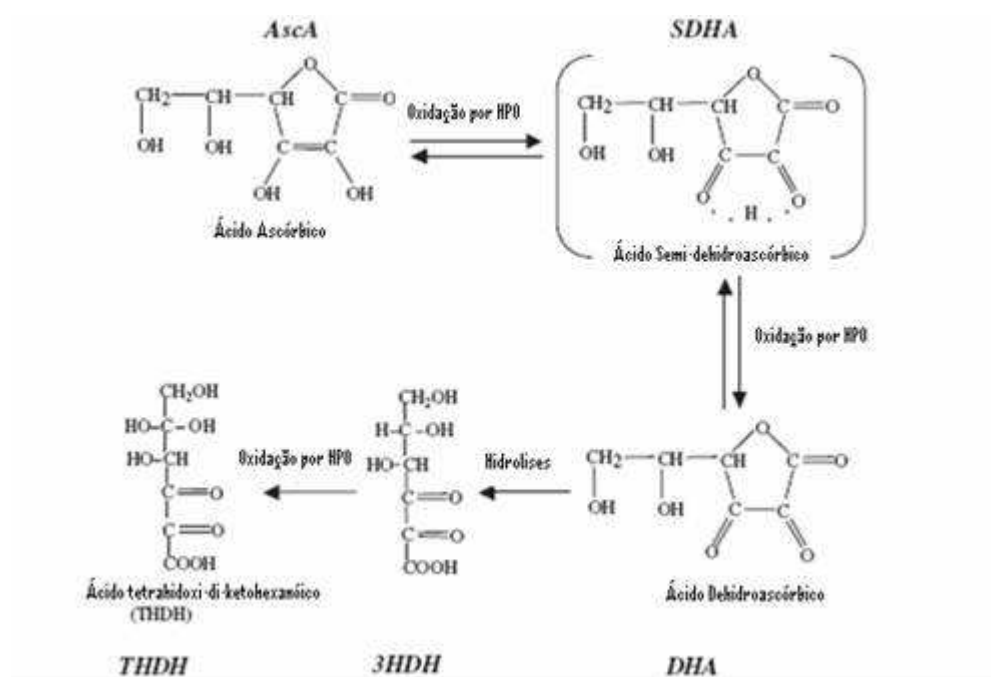
Adicionalmente, nas micrografias (TEM) da reação com relação MMA/Miglyol 812 igual a 1:1 também foram contados os números de partículas com diferentes morfologias sendo observado que 75% das partículas apresentaram a morfologia de nanocápsulas esféricas isoladas com núcleo líquido e casca polimérica bem definidos, conforme apresentado na Figura 4.22.



**Figura 4.22** – Diferentes morfologias observadas nas micrografias (TEM) das partículas formadas na reação de polimerização de MMA em miniemulsão com relação MMA/Miglyol 812 igual a 1:1 (Exp 04).

## 4.9 EFEITO DO TIPO DE INICIADOR NAS POLIMERIZAÇÕES DE MMA EM MINIEMULSÃO PARA FORMAÇÃO DE NANOCÁPSULAS – ENCAPSULAÇÃO DE QUERCETINA

Nesse item foi estudado o efeito de diferentes tipos de iniciadores sobre a formação de nanocápsulas, sendo um solúvel na fase orgânica (hidrofóbico), AIBN, e os outros solúveis na fase aquosa (hidrofílico), KPS e o par redox  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{AcAsc}$ . A Figura 4.23 apresenta o esquema proposto por Deutsch (1998) para as reações de oxidação do ácido ascórbico na presença do peróxido de hidrogênio.



**Figura 4.23** – Reações de oxidação do ácido ascórbico na presença do peróxido de hidrogênio (DEUTSCH, 1998 e BOUTTI et al., 2005).

Na Tabela 4.14, a seguir, são apresentados as constantes de degradação dos iniciadores e sua solubilidade na água. Este estudo tem como objetivo substituir o iniciador AIBN por um iniciador biocompatível e biodegradável, como é o caso do par redox, para aumentar a aplicabilidade das nanocápsulas em processos biomédicos.



**Tabela 4.14** - Constantes cinéticas de degradação a 70 °C e solubilidade na água dos iniciadores avaliados neste item.

	AIBN	KPS	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> / AcAsc
$k_d$ (s <sup>-1</sup> )	9,25x10 <sup>-5</sup>	4,31x10 <sup>-5</sup>	3,6x10 <sup>-5</sup>
Solubilidade (g/100g de H <sub>2</sub> O)	0,04	solúvel	Solúvel
Referências	Alduncin et al. (2004)	Santos et al. (1996)	Boutti e al. (2005)

Na Tabela 4.15 são apresentadas formulações usadas nestes experimentos.

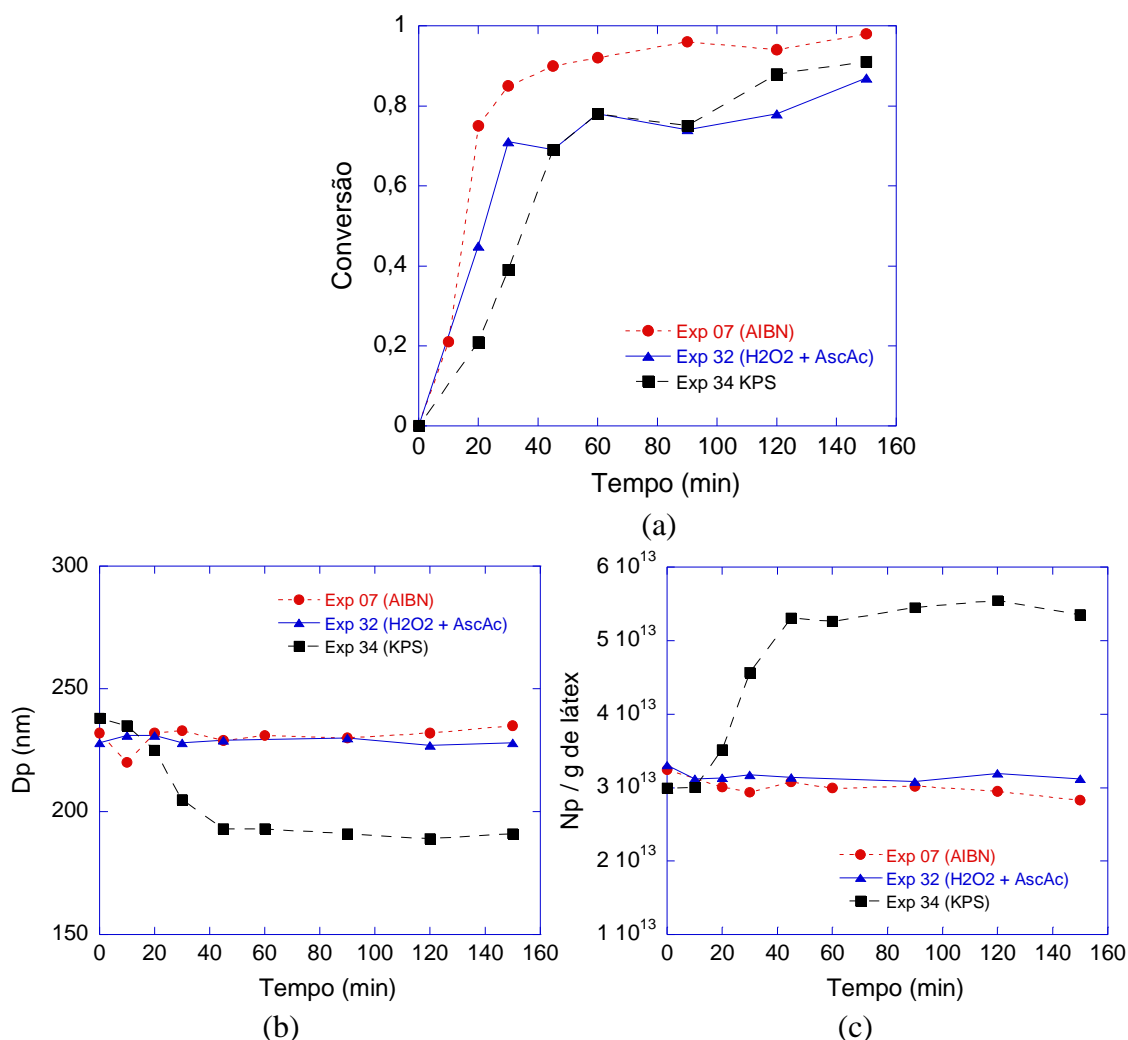
**Tabela 4.15** - Formulações das reações de polimerização de metacrilato de metila em miniemulsão realizadas a 70 °C com diferentes iniciadores, AIBN, KPS e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/AscA.

LÁTEX	REAGENTES							
	Fase aquosa					Fase orgânica		
	Água (g)	AscA (g)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (g)	KPS (g)	Lecitina (g)	Miglyol 812 (g)	MMA (g)	AIBN (g)
<b>Exp 07, 04</b>	24,272	-	-	-	0,092	3,030	3,09	0,076
<b>Exp 32</b>	24,000	0,047	0,030	-	0,090	3,009	3,016	-
<b>Exp 34</b>	24,084	-	-	0,015	0,090	3,033	3,105	-

Na Figura 4.24, a seguir, são apresentadas as evoluções da conversão, do diâmetro médio e do número de partículas poliméricas ao longo das reações com diferentes iniciadores Exp 07 com AIBN, Exp 32 com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/AscA e o Exp 34 com KPS, como mostrado na Tabela 4.15.

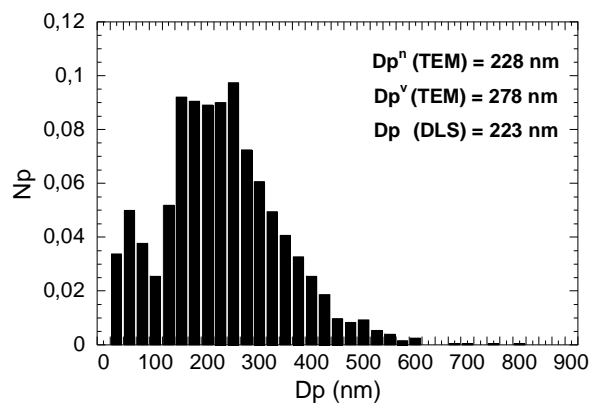
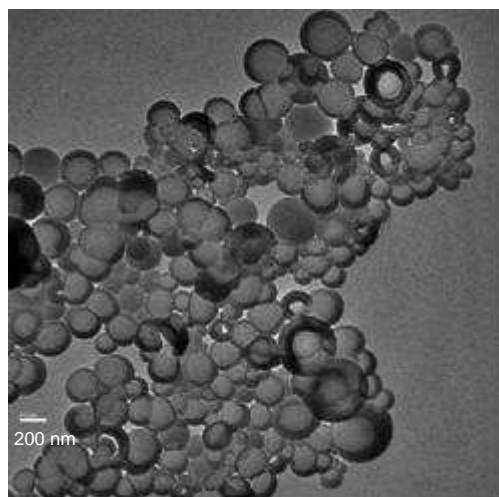
Os resultados apresentados na Figura 4.24a mostram que em todas as reações foram alcançadas conversões acima de 70% na primeira hora de reação e que, devido a concentração mais baixa de iniciador a reação com KPS apresentou a velocidade de reação mais baixa. Vale ressaltar, que o objetivo é comparar a formação de nanocápsulas com diferentes iniciadores e não a cinética destas reações. As reações realizadas com o iniciador solúvel na fase orgânica (AIBN) e com o sistema de iniciação por oxi-redução (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/AscA) resultaram em evoluções dos diâmetros médios das partículas (Figura 4.24b) e dos números das partículas (Figura 4.24c) muito parecidos, mantendo o número inicial das gotas de monômero. Este resultado aponta para a ausência de mecanismos indesejáveis de coalescência, degradação difusional e nucleação micelar e homogênea das partículas. Na reação de polimerização do MMA em miniemulsão com o iniciador solúvel na fase aquosa (KPS), por outro lado, uma redução do diâmetro e um conseqüente aumento do número de partículas podem ser observados. Este

efeito pode, eventualmente, ser atribuído à estabilização dos radicais que precipitam na fase aquosa devido a ação superficial dos radicais terminados com o grupo sulfato, levando à nucleação homogênea das partículas, conforme observado no trabalho de Saethre et al. (1995).

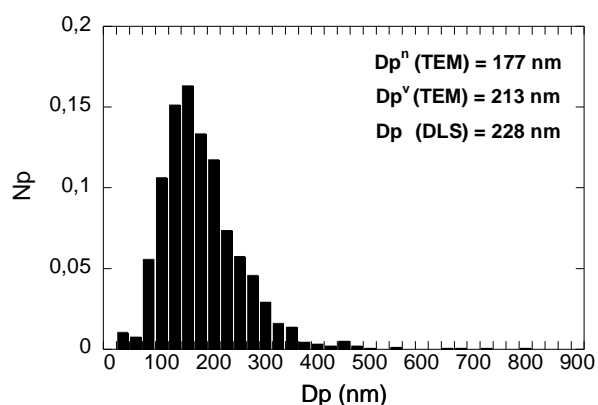
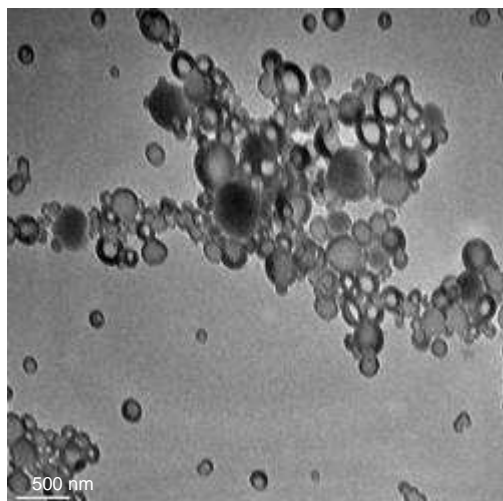


**Figura 4.24** – Comparação das evoluções das propriedades durante as reações usando diferentes iniciadores (AIBN, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/AscA e KPS). a) Conversão; b) Diâmetro médio das partículas Dp (nm); c) Número de partículas Np / g de látex.

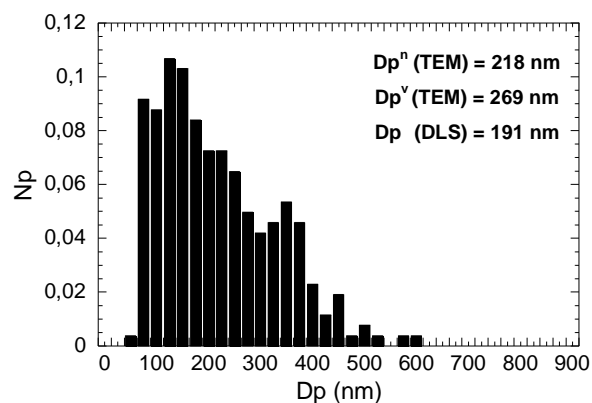
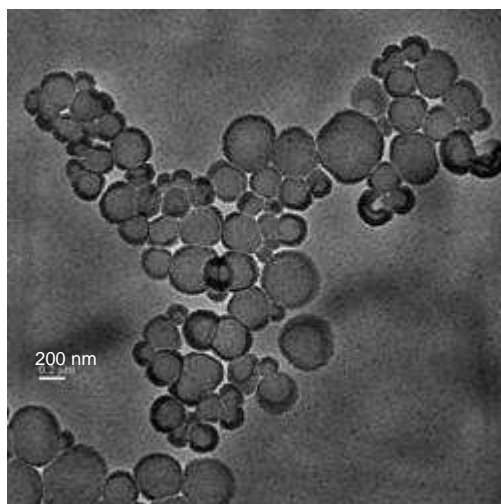
As Figuras 4.25 a 4.27 mostram as morfologias (TEM) e a distribuição do tamanho das partículas formadas nestas reações, sendo contadas 2044 partículas para reação com AIBN (Exp 04), 1620 para a reação com o par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/AscA (Exp 32) e 263 para a reação com o KPS (Exp 34).



**Figura 4.25** – Morfologia (TEM) e distribuição de tamanhos das nanocápsulas das polymerizações de MMA em miniemulsão com AIBN como iniciador (Exp 04).



**Figura 4.26** – Morfologia (TEM) e distribuição de tamanhos das nanocápsulas das polymerizações de MMA em miniemulsão com o par redox  $H_2O_2$  e AscA como sistema de iniciação (Exp 32).



**Figura 4.27** – Morfologia (TEM) e distribuição de tamanhos das nanocápsulas das polymerizações de MMA em miniemulsão com KPS como iniciador (Exp 34).

Na Figura 4.25 pode ser observado que o iniciador solúvel na fase orgânica (AIBN) ajuda a minimizar o indesejado mecanismo de nucleação na fase aquosa, levando a uma formação preferencial da morfologia de nanocápsulas com uma distribuição relativamente larga do tamanho das partículas. O diâmetro médio numérico das partículas determinado a partir destas medidas de microscopia eletrônica de transmissão  $Dp^{TEM} = 228$  nm apresenta boa concordância com  $Dp^{DLS} = 223$  obtido pela técnica de espalhamento dinâmico de luz.

Na Figura 4.26a pode ser notado que, apesar de o sistema de iniciação redox,  $H_2O_2/AcAsc$ , ser solúvel na fase aquosa, ele também leva a formação preferencial de morfologia de nanocápsulas. Esse resultado mostra a predominância do mecanismo de nucleação das gotas, uma vez que o coestabilizador, devido a sua solubilidade extremamente baixa na fase aquosa, não poderia migrar das gotas de monômero originais para o núcleo das partículas de PMMA recentemente nucleadas pelo mecanismo de nucleação na fase aquosa. É interessante observar na Figura 4.26a que mesmo as partículas muito pequenas apresentam a morfologia de nanocápsula, indicando que estas apresentam tamanhos diferentes desde a sua formação (miniemulsificação) e não devido a nucleação posterior de novas partículas. Finalmente, comparando as distribuições dos tamanhos das partículas apresentadas nas Figuras 4.25b e 4.26b pode ser observado que o uso do par redox resultou numa distribuição um pouco mais estreita do que o AIBN.

Mesmo usando um iniciador iônico convencional solúvel na fase aquosa, KPS, é possível alcançar a morfologia de nanocápsula, como mostrado na Figura 4.27a. Esse resultado, que difere dos resultados obtidos por Tiarks et al. (2001), pode ser atribuído ao uso de quantidade consideravelmente mais baixa de KPS comparado com a do AIBN ou com as quantidades de KPS empregadas por Tiarks et al. (2001). Essa concentração mais baixa de iniciador (KPS) foi adotada para tornar mais lenta a reação e, conseqüentemente, a separação de fases durante a reação, visto que a dinâmica de polimerização e a separação de fases, bem como, as propriedades interfaciais do sistema, como mencionados por Tiarks et al. (2001), representam causas possíveis para a falta de formação de nanocápsulas em seus trabalhos quando foi usado KPS. Tiarks et al. (2001) usaram as mesmas quantidades em massa de AIBN e KPS, enquanto neste trabalho a quantidade de KPS era de somente 21,4 % em peso do AIBN. A formação predominante de partículas com morfologia de nanocápsulas nesta reação com KPS, Figura 4.27a, é um indicativo de que a redução do diâmetro médio das partículas durante a reação com KPS, Figura 4.24b, provavelmente não se deve à nucleação de novas partículas por outros mecanismos além da nucleação das gotas. Adicionalmente,

para esta reação o diâmetro médio em número calculado a partir da contagem de partículas nas micrografias de TEM é maior do que o diâmetro médio medido pela técnica de difração dinâmica de luz, Figura 4.27b, usada na determinação da evolução dos tamanhos médios das partículas durante estas reações (Figura 4.24b).

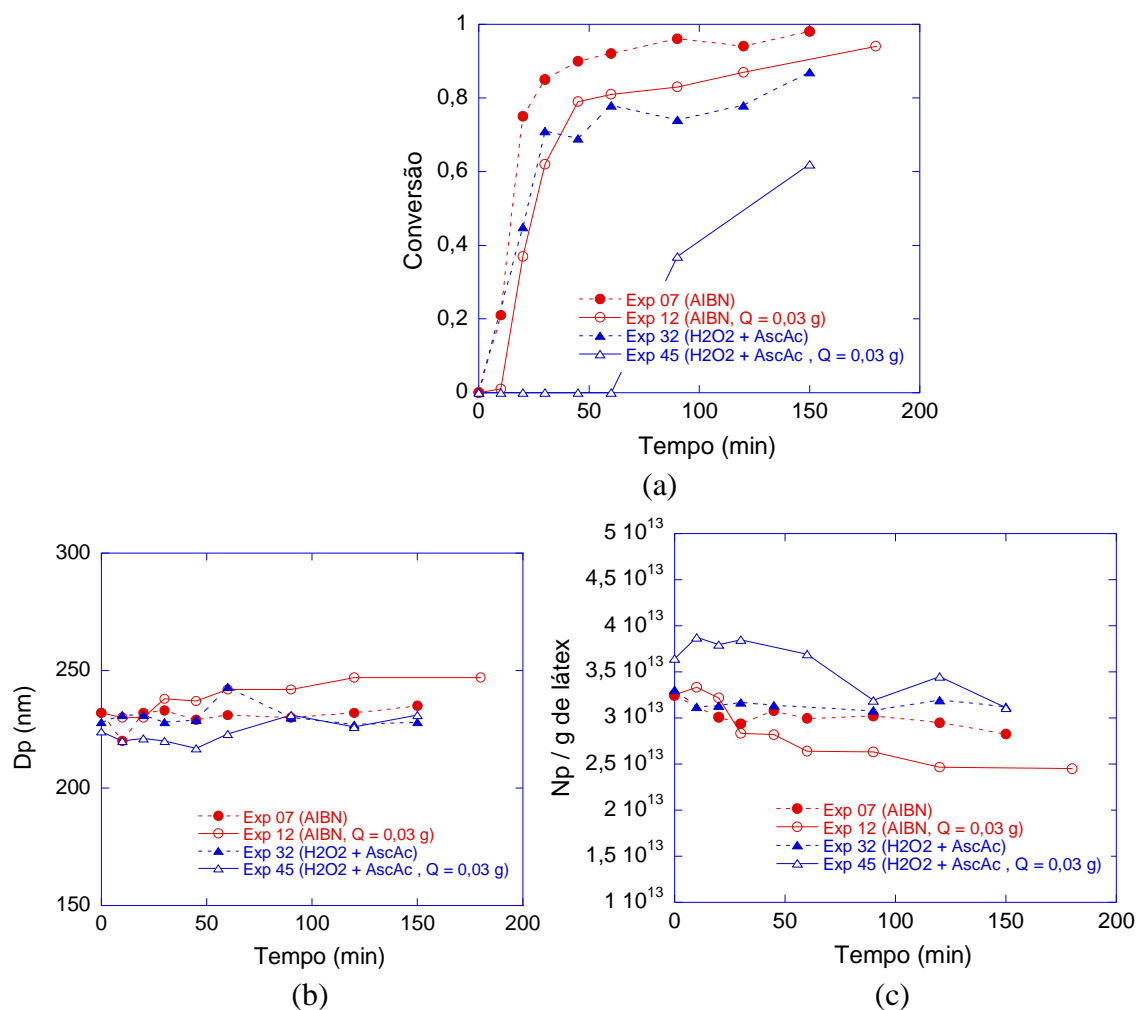
Uma vez verificado que é possível usar o par redox  $\text{H}_2\text{O}_2$  e AscA nas reações de polimerização de MMA em minimeulsão para formação de nanocápsulas foi realizado um estudo comparativo com diferentes iniciadores (AIBN e par redox) na presença e na ausência de Quercetina seguindo as formulações apresentadas na Tabela 4.16.

**Tabela 4.16** - Formulações das reações de polimerização de MMA em miniemulsão realizadas a 70 °C com diferentes iniciadores, AIBN e  $\text{H}_2\text{O}_2$ /AscA com e sem Quercetina.

LÁTEX	REAGENTES							
	Fase aquosa			Fase orgânica				
	Água (g)	Lecitina (g)	Miglyol 812 (g)	MMA (g)	AIBN (g)	AscA (g)	$\text{H}_2\text{O}_2$ (g)	Quercetina (g)
<b>Exp 07,04</b>	24,272	0,092	3,030	3,090	0,076	-	-	-
<b>Exp 12</b>	24,055	0,096	3,018	3,068	0,082	-	-	0,030
<b>Exp 32, 33</b>	24,000	0,090	3,009	3,016	-	0,047	0,030	-
<b>Exp 44, 45</b>	24,067	0,098	3,051	3,037	-	0,0042	0,031	0,030

Na Figura 4.28, a seguir, são apresentadas as evoluções da conversão, do diâmetro médio e do número de partículas poliméricas ao longo das reações usando AIBN (Exp 07 e Exp 12) e  $\text{H}_2\text{O}_2$ /AscA (Exp 33 e Exp 45) como iniciadores e encapsulando Quercetina (Exp 12 e Exp 45), como mostrado na Tabela 4.16.

Para os dois sistemas de iniciação, AIBN e  $\text{H}_2\text{O}_2$ /AscA, a presença da Quercetina causou uma redução da velocidade de reação, Figura 4.28a, indicando que esta deve ter reagido com os radicais livres gerados pelo iniciador. Entretanto, esta redução foi mais acentuada, ocorreu a inibição inicial da reação, no experimento com o sistema  $\text{H}_2\text{O}_2$ /AscA do que naquele com AIBN indicando que provavelmente há forte interação da Quercetina com os radicais gerados nas reações de oxi-redução.



**Figura 4.28** – Comparação das evoluções das propriedades durante as reações usando diferentes iniciadores (AIBN e  $H_2O_2/AscAc$ ) com ou sem Quercetina. a) Conversão; b) Diâmetro médio das partículas  $D_p$  (nm); c) Número de partículas  $N_p$  / g de látex.

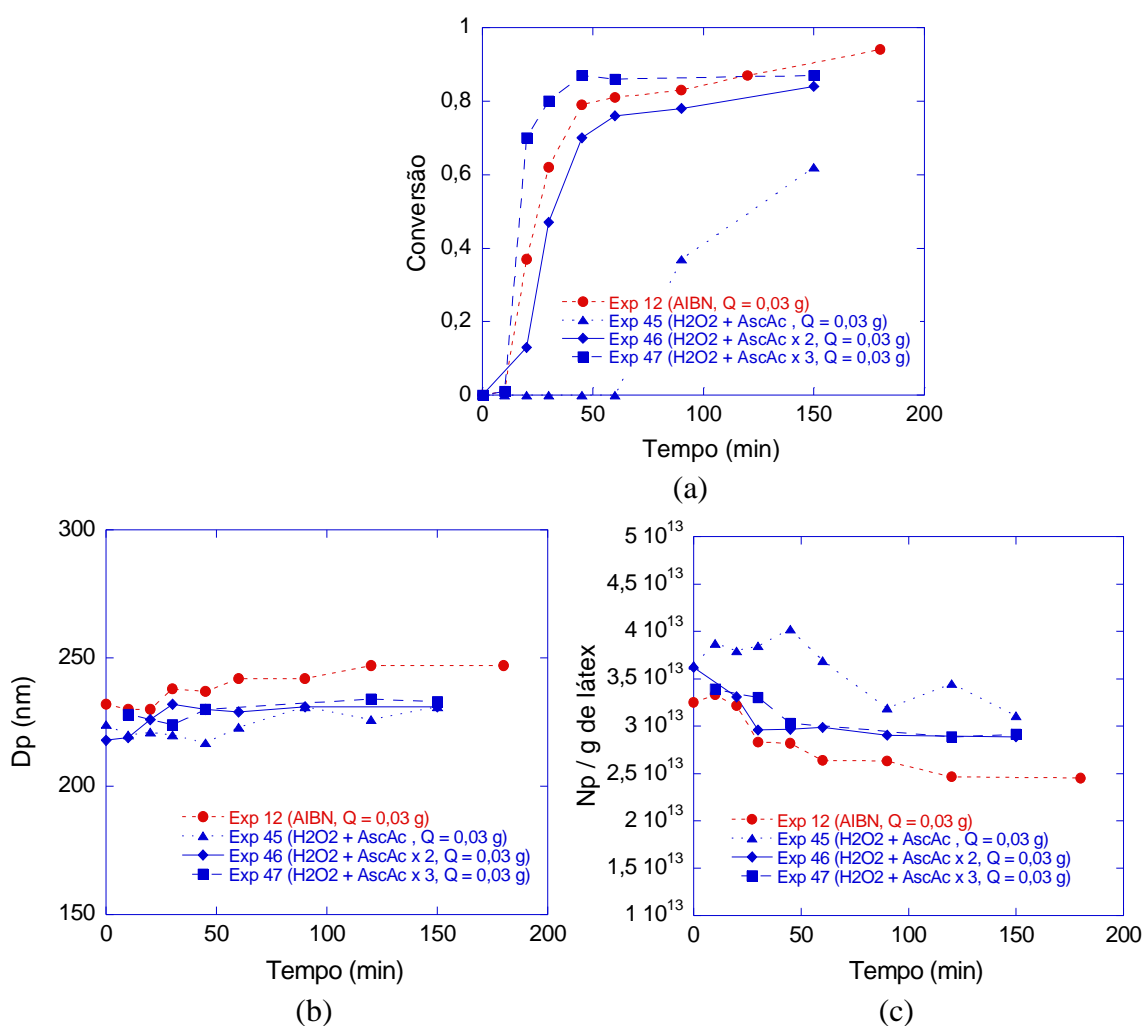
Uma alternativa para tentar minimizar este efeito é aumentar a quantidade de ácido ascórbico usada nestas reações, visto que o ácido ascórbico age como um redutor da oxidação da Quercetina. Portanto, foram realizadas reações, Exp 46 e Exp 47, com Quercetina com concentrações mais altas de ácido ascórbico com as formulações apresentadas na Tabela 4.17.

**Tabela 4.17** - Formulações das reações de polimerização de metacrilato de metila em miniemulsão realizadas a 70 °C com diferentes iniciadores, AIBN e  $H_2O_2/AscA$ , com diferentes concentrações de AscA e com Quercetina.

LÁTEX	REAGENTES							
	Fase aquosa				Fase orgânica			
	Água (g)	Lecitina (g)	Miglyol 812 (g)	MMA (g)	AIBN (g)	AscA (g)	$H_2O_2$ (g)	Querce- tina (g)
Exp 12	24,055	0,096	3,018	3,068	0,082	-	-	0,030
Exp 44, 45	24,067	0,098	3,051	3,037	-	0,0042	0,031	0,030
Exp 46	25,309	0,094	3,008	3,010	-	0,0089	0,032	0,029
Exp 47	24,214	0,099	3,019	3,083	-	0,0136	0,034	0,030

A Figura 4.29 mostra as evoluções da conversão, do diâmetro médio e do número de partículas poliméricas ao longo das reações usando  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{AscA}$  como iniciadores (Exp 45, Exp 46 e Exp 47), com diferentes concentrações de ácido ascórbico e com Quercetina. Para facilitar a comparação nesta figura também foram incluídos os resultados da reação realizada com AIBN como iniciador e com Quercetina (Exp 12).

Na Figura 4.29a pode ser observado que o aumento da concentração de ácido ascórbico resulta num aumento considerável da velocidade de reação sem afetar outras propriedades como o diâmetro médio (Figura 4.29b) e o número de partículas poliméricas (4.29c). Este resultado é um indicativo da possibilidade de incorporação de Quercetina nas nanocápsulas sintetizadas via polimerização de MMA em miniemulsão, usando Miglyol 812 como coestabilizador das nanocápsulas e como carreador da Quercetina e o sistema de iniciação via reações de oxi-redução composto por peróxido de hidrogênio e ácido ascórbico.



**Figura 4.29** – Comparação das evoluções das propriedades durante as reações usando diferentes concentrações de ácido ascórbico com Quercetina. a) Conversão; b) Diâmetro médio das partículas Dp (nm); c) Número de partículas Np / g de látex.

## 4.10 DOSEAMENTO DA QUERCETINA APÓS AS POLIMERIZAÇÕES DE MMA EM MINIEMULSÃO PARA FORMAÇÃO DE NANOCÁPSULAS

Nos resultados apresentados nos itens anteriores foi observado que as reações realizadas com Quercetina apresentaram velocidades de reações inferiores àquelas realizadas com formulações análogas, porém sem Quercetina. Este resultado indica que a presença da Quercetina inibe e/ou retarda as reações de polimerização e, conseqüentemente, pode estar sendo parcialmente consumida nas reações. Lembrando que a Quercetina é um anti-oxidante e por essa razão pode ter reagido com os radicais presentes no meio reacional e perdido sua atividade. Além disso, após as reações também era observada uma pequena quantidade de Quercetina (amarela) depositada no fundo das ampolas (Figura 4.30). Para quantificar a Quercetina remanescente (não sedimentada) após as reações foi realizado um doseamento da Quercetina via espectroscopia UV nos látices finais. Nesse doseamento foi quantificada a Quercetina total (encapsulada e em suspensão).



**Figura 4.30** – Ampolas após as reações de polimerização de MMA em miniemulsão com Quercetina (amarela) depositada no fundo.

A Tabela 4.18 apresenta os resultados do doseamento da Quercetina total após as reações de polimerização do MMA em miniemulsão.



**Tabela 4.18** – Percentuais de Quercetina remanescentes nos látices (após as reações de polimerização de MMA em miniemulsão).

Reação	Descrição	Quercetina Inicial (g)	Quercetina Final (g)	Quercetina total remanescente (%)
Exp 05	MMA / Miglyol 812 (1:1) / Lecitina / AIBN	0,01	0,0052	52
Exp 36	MMA / Miglyol 812 (2:1) / Lecitina / AIBN	0,01	0,0017	17
Exp 38	MMA / Miglyol 812 (3:1) / Lecitina / AIBN	0,01	0,0040	40
Exp 12	MMA / Miglyol 812 (1:1) / Lecitina / AIBN	0,03	0,0205	68
Exp 30	MMA / Miglyol 812 (1:1)/ Tween 80 e Span 80 / AIBN	0,03	0,0227	76
Exp 31	MMA / Miglyol 812 (1:1)/ Tween 80 e Span 80 / AIBN	0,03	0,0196	65
Exp 40	MMA / Óleo de Rícino (1:1) / Lecitina / AIBN	0,03	0,0131	44

Pela análise dos resultados apresentados na Tabela 4.18 pode ser observado que nas reações realizadas com Miglyol 812 como coestabilizador, AIBN como iniciador e com 0,03 g de Quercetina (0,5% em relação a fase orgânica) entre 65 e 76 % da Quercetina inicial remanesceu nos látices finais. O teor mais elevado observado na reação realizada com o par de surfatantes Tween 80 e Span 80 pode ser devido a boa capacidade solubilizante do Tween 80, resultando no aumento indesejado da solubilidade da quercetina na fase aquosa. Na reação com óleo de rícino como coestabilizador este percentual foi mais baixo (44%), o que pode ser atribuído ao caráter mais hidrofílico deste co-estabilizador, devido à presença de grupos hidroxila na sua estrutura molecular (Figura 4.8b), fazendo com que o coestabilizador e, consequentemente, também a Quercetina não se encontrem tão bem encapsulados como no caso do Miglyol 812. O menor percentual de nanocápsulas formadas quando foi usado o óleo de rícino também foi observado nas micrografias de amostras das reações com este coestabilizador (Figura 4.13b). As reações realizadas com teores mais baixos de Quercetina (0,01 g de Quercetina) apresentaram percentuais mais baixos de Quercetina total final e sem um efeito claro da relação MMA:Miglyol 812, possivelmente devido a sensibilidade do método analítico usado neste doseamento.

## CAPÍTULO V

# CONCLUSÃO E SUGESTÕES

### 5.1 CONCLUSÃO

Neste trabalho foram obtidas partículas com diferentes tipos de coestabilizadores, surfatantes, iniciadores e monômero através da polimerização em miniemulsão.

Os resultados obtidos nas reações de polimerização de metacrilato de metila (MMA) em miniemulsão com Miglyol 812 como coestabilizador, lecitina como surfatante e 2,2'-azo-bis-isobutironitrila como iniciador mostram que tanto a relação fase aquosa/ fase orgânica quanto a relação surfatante/monômero interferem no diâmetro médio das partículas e no número de partículas. Na comparação entre as reações para obtenção das nanocápsulas e das nanoesferas foram observadas velocidades de reação parecidas, entretanto, existe uma diferença entre o diâmetro médio e número das nanocápsulas e das nanoesferas, devido ao efeito do Miglyol 812 na viscosidade das gotas nanométricas e na estabilidade das miniemulsões. Adicionalmente, a relação MMA/Miglyol 812 igual a 1/1 favoreceu a formação de nanocápsulas em comparação com relação MMA/Miglyol 812 igual a 3/1. No primeiro caso foi observada a formação preferencial da morfologia de nanocápsulas em 75% das 2044 partículas avaliadas.

Ao averiguar o efeito do tipo de monômero na cinética de polimerização, foi observado que, as velocidades de reação das polimerizações com acetato de vinila (VAc) em miniemulsão foram muito menores do que as das reações com MMA, apesar da constante cinética de propagação do VAc ser dez vezes maior que a constante cinética de propagação do MMA. Este comportamento se deve ao menor número médio de radicais por partícula polimérica nas reações com VAc que por sua vez pode ser atribuído aos seguintes fatores: 1) O VAc é 3,3 vezes mais solúvel na fase aquosa do que o MMA; 2) A constante cinética das reações de transferência de cadeia adimensional para o monômero, reações que levam à formação de radicais mais aptos para saírem das partículas de polímero, do VAc é 5 a 17 vezes maior do que a do MMA; 3) As reações de transferência de cadeia degradativa ao coestabilizador são mais frequentes para os radicais do VAc do que para os do MMA.

Adicionalmente, foi verificado que as reações com óleo de rícino como coestabilizador foram mais lentas do que as reações com Miglyol 812. Uma possível explicação para este resultado, além do efeito do número um pouco menor de partículas nestas reações com óleo rícino, é a ocorrência de reações com as duplas ligações presentes nas cadeias de ácido ricinoleico, presente no óleo de rícino, dando origem a radicais de carbono quaternário pouco reativos, e, conseqüentemente, retardando estas reações. Além disso, nas reações de polimerização de MMA em miniemulsão usando óleo de rícino como coestabilizador poucas partículas apresentaram a morfologia de nanocápsulas, possivelmente devido ao caráter mais hidrofílico do óleo de rícino.

Na comparação entre diferentes emulsificantes, verificou-se que a lecitina, nas concentrações avaliadas, resultou na formação de látices mais estáveis do que o par Tween 80 e Span 80. Estes resultados sinalizam que a lecitina provavelmente é mais indicada para síntese de nanocápsulas de PMMA via polimerização em miniemulsão.

Em relação ao tipo de iniciador, nas realizadas polimerizações em miniemulsão de MMA usando Miglyol 812 como coestabilizador e lecitina como surfatante foi observada a formação preferencial da morfologia de nanocápsulas para todos os iniciadores avaliados: iniciador organossolúvel 2,2'-azo-bis-isobutironitrila, iniciador hidrossolúvel persulfato de potássio ou sistema de oxi-redução composto por peróxido de hidrogênio e ácido ascórbico.

As reações realizadas com Quercetina apresentaram velocidades de reação inferiores às realizadas com formulações análogas, porém sem Quercetina, indicando que provavelmente a presença da Quercetina inibe e/ou retarda as reações de polimerização e, conseqüentemente, pode estar sendo parcialmente consumida nas reações. O percentual de Quercetina remanescente nos látices finais foi maior quando se utilizou o Miglyol 812 como coestabilizador em comparação as reações realizadas com óleo de rícino, o que pode ser atribuído ao caráter mais hidrofílico deste coestabilizador, devido à presença de grupos hidroxila na sua estrutura molecular, fazendo com que o coestabilizador e, conseqüentemente, também a Quercetina não se encontrem tão bem encapsulados como no caso do Miglyol 812. Nas reações realizadas com o par de oxi-redução composto por peróxido de hidrogênio e ácido ascórbico na presença de Quercetina foi observado que o incremento da concentração de ácido ascórbico resulta num aumento considerável da velocidade de reação sem afetar outras propriedades como o diâmetro médio, visto que o ácido ascórbico age como um redutor da oxidação da Quercetina. Este resultado é um indicativo da possibilidade de incorporação

de Quercetina nas nanocápsulas sintetizadas via polimerização de MMA em miniemulsão, usando Miglyol 812 como coestabilizador das nanocápsulas e como carreador da Quercetina e o sistema de iniciação via reações de oxi-redução composto por peróxido de hidrogênio e ácido ascórbico.

## 5.1 SUGESTÕES

Como sugestão para trabalhos futuros pode-se mencionar os seguintes tópicos:

- Realizar estudo envolvendo outros tipos de monômeros, iniciadores, coestabilizadores e surfatantes e verificar o seu efeito na morfologia das partículas e na cinética da reação;
- Avaliar o uso de outros tipos de dispersores, como por exemplo microfluidizador ou Manton Gaulin, para preparar a miniemulsão visando a ampliação de escala destas reações;
- Desenvolver modelo matemático das reações de polimerização em miniemulsão para avaliar o efeito do tipo e concentração do monômero, coestabilizador, surfatante e iniciador na morfologia das partículas formadas;
- Avaliar o mecanismo e a taxa de liberação da Quercetina das nanoesferas e nanocápsulas poliméricas (estudos de liberação *in vitro*);
- Desenvolver modelo matemático para descrever a liberação da Quercetina das nanoesferas e nanocápsulas poliméricas via mecanismos difusivos e erosivos para avaliar o efeito do tamanho médio das partículas e o uso de diferentes tipos de monômeros e coestabilizadores.

## REFERÊNCIAS

- ADER, P., WESSEMAN, A., WOLFFRAM, S., Bioavailability and metabolism of the flavonol quercetin in the pig. *Free Radic. Biol. Med.* 2000, v. 28, pp. 1056–1067.
- ALDULCIN, J.A., FORCADA, J., BARANDIARAM, J.M., ASUA, J. M., On the Main Locus of Radical Formation in Emulsion Polymerization Initiated by Oil-Soluble Initiators, *Polym. Sci.*, 1991, v. 29, pp. 1265-1270.
- ALDULCIN, J.A., FORCADA, J., BARANDIARAM, J.M., ASUA, J. M., Miniemulsion Polymerization Using Oil-Soluble Initiators, *Macromolecules*, 1994, v. 27, pp. 2256-2261.
- ALIA, M.; MATEOS, R.; RAMOS, S.; LECUMBERRI, E.; BRAVO, L.; GOYA, L. Influence of quercetin and rutin on growth and antioxidant defense system of a human hepatoma cell line (hepG2). *Eur. J. Nutr.* 2006, v. 45, pp. 19-28.
- ALLÉMANN, E.; GURNY, R.; DOEKLER, E., Drug\_loaded Nanoparticles – Preparation Methods and Drug Targeting Issues, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 1993, v. 39, pp. 173-191.
- AL-GHAMDI, G.H., SUDOL, E.D., DIMONIE, V.L., EL-AASSER, M.S., Encapsulation of Titanium Dioxide in Styrene/n-Butyl Acrylate Copolymer by Miniemulsion Polymerization. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2006, v. 101, pp. 3479-3486.
- AMARAL, M. DO, BOGNER, A., GAUTHIER, C., THOLLET, G., JOUNEAU, P.-H., CAVAILLE, J.-Y., ASUA, J. M., *Macromol. Rapid. Commun.*, 2006, v. 26, pp. 365-368.
- ANTONIETTI, M., LANDFESTER, K., Polyreactions in Miniemulsion, *Prog. Polym. Sci.*, 2002, v. 27, pp. 689-757.
- ASUA, J.M., Miniemulsion polymerization, *Prog. Polym. Sci.*, 2002. v. 27: pp. 1283-1346.
- BALA, I., BHARDWAJ, V., HARIHARAN, S., KHARADE, S.V., Roy, N., RAVI KUMAR, M.N., Sustained release nanoparticulate formulation containing antioxidant ellagic acid as potential prophylaxis system for oral administration. *J. Drug Target.* 2006., v. 14, pp. 27–34.
- BALLARD, M.J., NAPPER, D.H., GILBERT, R.G., Kinetics of emulsion polymerization of methyl methacrylate, *J. Polym. Sci.: Polym. Chem. Ed.*, 1984, v. 22, pp. 3225.
- BATHFIELD, M., G. C., HAMAIDE, T., Encapsulation of High Biocompatible Hydrophobe Contents in Nonionic Nanoparticles by Miniemulsion Polymerization of Vinyl Acetate or Styrene: Influence of the Hydrophobe Component on the Polymerization, *Macromol. Chem. Phys.*, 2005, v. 206, pp. 2284-2291.
- BENITA, S., Ed. *Microencapsulation: Methods and Industrial Applications*; Marcel Dekker: New York, 1996.
- BEUERMANN, S., BUBACK, M., DAVIS, T.P., GILBERT, R.G., HUTCHINSON, R.A., OLAJ, O.F., RUSSELL, G.T., SCHWEER, J., VANHERK, A.M., Critically evaluated rate coefficients for free-radical polymerization .2. Propagation rate coefficients for methyl methacrylate. *Macromol. Chem. Phys.*, 1997, v. 198 (5), pp. 1545-1560.

- BLANKENSHIP, R. M.; KOWALSKI, A.; U.S. Patent 4 594, 363, *Chem. Abstr.* 1986, 61130.
- BLOT, W.J.; McLAUGHLIN, J.K.; CHOW, W.H. Cancer rates among drinkers of black tea. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 1997, v. 37, pp.739-760.
- BLOUZA, I.L., CHARCOSSET, C., SFAR, S., FESSI, H., Preparation and Characterization of Spirolactone-Loaded Nanocapsules for Paediatric Use, *Pharmaceut. Nanotech.*, 2006, v. 325, pp. 124-131.
- BRANDRUP, J., IMMERGUT, E. H., GRULKE, E. A.. *Polymer Handbook*, Ed.; Wiley-Interscience, New York, 1999;Vol.1, III 6-8.
- BOLETIM TÉCNICO OXITENO, 2003.
- BOURGEOIS-LAMI, E., How Particles, *Coloidal Polymers*, 2003, pp. 212-215.
- BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutr. Rev.* 1998, v. 56, pp.317-333.
- CALABRO, M. L., TOMMASINI, S., DONATO, P., RANERI, D., STANCANELLI, R., FICARRA, R., COSTA, C., CATANIA, S.; RUSTICHELLI, C.; GAMBERINI, G., Effects of  $\alpha$ - and  $\beta$ -Cyclodextrin Complexation on the Physico-chemical Properties and Antioxidant activity of Some 3-Hydroxyflavones, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2004, v. 35, pp. 365-377.
- CAPEK, I., Degradation of Kinetically-Stable O/W Emulsions, *Adv. Colloid Interf. Sci.*, 2004, v. 107, pp. 125-155.
- CHOU Y.J., EL-AASSER, M. S., VANDERHOFF J.W., Mechanism of emulsification of styrene using hexadecyltrimethylammonium bromide-cetyl alcohol mixture, *J. Dispers. Sci. Technol.*, 1980, v. 1, pp. 129-150.
- COMALADA, M., CAMUESCO, D., SIERRA, S., BALLESTER, I., XAUS, J., GALVEZ, J., ZARZUELO, A., In vivo quercitrin anti-inflammatory effect involves release of quercetin, which inhibits inflammation through down-regulation of the NF-kappaB pathway. *Eur. J. Immunol.*, 2005, v. 35, pp.584-592.
- COS, P.; YING, L.; CALOMME, M.; CIMANGA, K.; VANPOEL, B.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A. J.; VANDERBERGHE, D. Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *J. Prod.* 1998, v. 61, pp.71-76.
- COUNET, C.; COLLIN, S. Effect of number of flavonol units on the antioxidant activity of procyanidin fractions isolated from chocolate. *Food Chem.* 2003, v. 51, pp. 6816-6822.
- COUVREUR, P.; DUBERNET, C.; PUISIEUX, F., Controlled Drug-Delivery with Nanoparticles – Current Possibilities and Future-Trends, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 1995, v. 41, pp. 2-13.
- CRESPY, D., MUSYANOVYCH, A., LANDFESTER, K., Synthesis of Polymer Particles and Nanocapsules Stabilized with PEO/PPO containing Polymerizable Surfactants in Miniemulsion, *Colloid Polym. Sci.*, 2006, v. 284, pp.780-787.
- DAI, J., NAGAI, T., WANG, X., ZHANG, T., MENG, M., ZHANG, Q., pH-sensitive nanoparticles for improving the oral bioavailability of cyclosporine A. *Int. J. Pharm.*, 2004, v. 280, pp. 229-240.

- DO AMARAL, M., ASUA, J.M., Synthesis of Large, High-solid\_content Lateses by Miniemulsion Polymerization, *J. Polym. Sci. A*, 2004, v. 42(17), pp. 4222-4227.
- DUTHIE, G. G.; DUTHIE, S. J.; KYLE, J. A. M. Plant polyphenols in cancer and heart disease: implications as nutritional antioxidants. *Nutr. Res. Rev.* 2000, v. 13, pp.79-106.
- FENG, S-S.; CHIEN, S. Chemotherapeutic engineering: Application and further development of chemical engineering principles for chemotherapy of cancer and other diseases. *Chem. Eng. Sci.*, 2003, v. 58, pp. 4087-4114.
- FICHA TÉCNICA MIGLYOL 812 812 N, Sasol Germany GmbH, 2006.
- FRIJLINK, H.W., EISSENS, A.C., HEFTING, N.R., POELSTRA, K., LERK, C.F., MEIJER, D.K., The effect of parenterally administered cyclodextrins on cholesterol levels in the rat. *Pharm. Res.*, 1991, v. 8, pp. 9–16.
- GREF, R.; MINAMITAKE, Y.; PERACCHIA, M. T.; TRUBETSKOY, V.; TORCHILIN, V.; LANGER, R. Biodegradable Long-Circulating Polymeric Nanospheres, *Science* 1994, v. 263, pp. 1600-1603.
- HANSEN, F.K. UGELSTAD, J. Particle nucleation in emulsion polymerization IV. Nucleation in monomer droplets. *J. Polym. Sci. Chem.*, 1979, v. 17, pp. 3069-3082.
- HARWOOD, M., DANIELEWSKA-NIKIEL, B., BORZELLECA, J.F., FLAMM, G.W., WILLIAMS, G.M., LINES, T.C., A critical review of the data related to the safety of quercetin and lack of evidence of in vivo toxicity, including lack of genotoxic/carcinogenic properties, *Food and Chemical Toxicology* 45, 2179-2205, 2007.
- HERTOG, M.G.L., HOLLMAN, P.C.H., Venema, D.P., Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. *J. Agric. Food Chem.* 1992, v. 40, pp. 1591–1598.
- HERTOG, M. G. L.; FESKENS, E. J. M.; HOLLMAN, P. C. H.; KATAM, M. B.; KROMHOUT, D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen elderly study. *Lancet* 1993, v. 342, pp. 1007-1011.
- HIGUCHI, W.I., MISRA, J., Physical Degradation of Emulsions Via the Molecular Diffusion Route and the Possible Prevention Thereof, *J. Pharmac. Sci.*, 1962, v. 51(5), pp. 459-466.
- HOLLMAN, P. C. H.; VAN TRIJP, J. M. P.; MENGELERS, M. J. B.; DE VRIES, J. H. M.; KATAN, M. B. , Bioavailability of the dietary antioxidant flavonol quercetin in man, *Cancer Lett.* 1997, v. 114, pp.139-140.
- HSU, C.H., CUI, Z., MUMPER, R.J., JAY, M., Preparation and characterization of novel coenzyme Q10 nanoparticles engineered from microemulsion precursors. *AAPS Pharm. Sci. Technol.* 2003, v. 4, E32.
- HUTCHINSON, R. A., J. R. RICHARDS, AND M. T. ARONSON, Determination of Propagation Rate Coefficients by Pulsed-Laser Polymer-ization with Rapid Chain Growth: Vinyl Acetate, *Macromolecules* , 1994, v. 27, p. 4530-4537.
- INAL, M.E., KAHRAMAN, A., The protective effect of flavonol quercetin against ultraviolet A induced oxidative stress in rats. *Toxicology* 2000, v.154, pp. 21–29.
- KANADASWAMI, C., LEE, L.T., LEE, P.P., HWANG, J.J., KE, F.C., HUANG, Y.T., LEE, M.T., The antitumor activities of flavonoids. *In Vivo* 2005, v.19, pp. 895–909.

- KIM, J.W; JOE, Y. G.; SUH, K. D., Poly(methyl methacrylate) Hollow Particles by Water-in-Oil Emulsion Polymerization, *Coll. Polym. Sci.*, 1999, v. 277, pp. 252-256.
- KÜHNAU, J., The flavonoids. A class of semi-essential food components: their role in human nutrition, *World Rev. Nutr. Diet.* 1976, v. 24, pp. 117-191.
- KUMAR, M. N. *Reac.t Func.t Polym.* 2000, v. 46, pp. 1.
- LANDFESTER, K. Synthesis of colloidal particles in miniemulsions, *Annu. Rev. Mater. Res.*, 2006, v. 36, pp. 231-79.
- LANDFESTER, K., BECHTHOLD, N., TIARKS, F., ANTONIETTI, M., Formulation and Stability Mechanisms of Polymerizable Miniemulsions, *Macromolecules*, 1999, v. 32, pp. 5222-5228.
- LANDFESTER, K., Polyreactions in Miniemulsions, *Macromol. Rapid Commun*, 2001, v. 22, pp. 896-936.
- LEE, E.S., LEE, H.E., SHIN, J.Y., YOON, S., MOON, J.O., The flavonoid quercetin inhibits dimethylnitrosamine-induced liver damage in rats. *J. Pharm. Pharmacol.* 2003, v. 55, pp.1169–1174.
- LU, Y.; CHEN, S.C. Micro and nano-fabrication of biodegradable polymers for drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Ver.* 2004, v. 56, pp.1621-1633.
- MCDONALD, C.J., BOUCK, K.J., CHAPUT, A.B., STEVENS, C.J., Emulsion Polymerization of Voided Particles by Encapsulation of a Nonsolvent, *Macromolecules*, 2000, v. 33, pp. 1593-1605.
- MILLER, C.M., SUDOL, E.D., SILEBI, C.A., EL-AASSER, M.S., Polymerization of Miniemulsions Prepared from Polystyrene in Styrene solution. 1. Benchmarks and Limits), *Macromolecules*, 1995, v. 28, pp. 2754-2764.
- MU, X., ZHONG, Z., Preparation and properties of poly(vinyl alcohol)- stabilized liposomes. *Int. J. Pharm.* 2006, v. 318, pp. 55–61.
- MULHOLLAND, P.J., FERRY, D.R., ANDERSON, D., HUSSAIN, S.A., YOUNG, A.M., COOK, J.E., HODGKIN, E., SEYMOUR, L.W., KERR, D.J., Pre-clinical and clinical study of QC12, a water-soluble, pro-drug of quercetin. *Ann. Oncol.* 2001, v. 12, pp. 245–248.
- NAIR, L.S.; LAURENCIN, C.T. Biodegradable polymers as biomaterials. *Prog. Polym. Sci.*, 2007, v. 32, pp. 762-798.
- NARINE, S.S., KONG, X.. *Vegetable Oils in Production of Polymers and Plastics* in Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Wiley, 6th Edition, Fereidoon Shahidi (Editor), v. 6, 2005.
- OKUBO, M.; YOSHIMURA, T., 1996, European Patent, 695769, Chem. Abstr. 1996, 124, 205084.
- ORO, D., DO AMARAL, M., ARAUJO, P.H.H., SAYER, C., Miniemulsion Polymerization of Styrene using Expanded Polystyrene as Hydrophobe, IUPAC World Polymer Congress - MACRO 2006, julho de 2006, Rio de Janeiro, RJ.
- OUZINEB, K., LORD, C., LESAUZE, N., GRAILLAT, C., TANGUY, P.A., MCKENNA, T., Homogenisation devices for the production of miniemulsions, *Chem. Eng. Sci.*, 2006, v. 61, pp. 2994-3000.



- PRALHAD, T., RAJENDRAKUMAR, K., Study of freeze-dried quercetin–cyclodextrin binary systems by DSC, FT-IR, X-ray diffraction and SEM analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2004, v. 34, pp. 333–339.
- RICE-EVANS, C.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure – antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolics acid. *Free Radical Biol. Med.* 1996, v. 20, pp. 933-956.
- ROIG, R.; CASCON, E.; AROLA, L.; BLADE, C.; SALVADO, M. J. Procyanidins protect Fao cells against hydrogen peroxide – induced oxidative stress. *Biochim. Biophys. Acta* 2002, v. 1572, pp. 25-30
- ROMIO, A.P., Obtenção de Nanocápsulas via Polimerização em Miniemulsão, Dissertação de Mestrado, Programa de Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina, 2007.
- SAETHRE, B., MORK, P.C., UGELSTAD, J., Preparation of Poly(Vinyl Chloride) Latexes by Polymerization of Stabilized Monomer Droplets, *J. Polym. Sci. A.*, 1995, v. 33, p p. 2951-2959.
- SHORK, F.J., LUO, Y., SMULDERS, W., RUSSUM, J. P., BUTTÉ, A., FONTENOT, K., Miniemulsion Polymerization, *Adv. Polym. Sci.*, 2005, v. 175, pp. 129-255.
- SINHA, V. R.; SINGLA, A. K.; WADHAWAN, S.; KAUSHIK, R.; KUMRIA, R.; BANSAL, K.; DHAWAN, S., Chitosan microspheres as a potential carrier for drugs, *Int. J. Pharm.* 2004, v. 274, pp. 1-33.
- TIARKS, F., LANDFESTER, K., ANTONIETTI, M., Preparation of Polymeric Nanocapsules by Miniemulsion Polymerization, *Langmuir*, 2001, v. 17, pp. 908-918.
- UGELSTAD, J., EL-AASSER, M. S., VANDERHOFF, J. W., *Polym. Lett.*, 1973, v. 11, pp. 503-513.
- VAN ACKER, S. A. B. E.; VAN DER BERG, D. J. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biol. Med.* 1996, v. 20, pp. 331-342.
- VAN HERK, A.M. *Chemistry and Technology of Emulsion Polymerisation*, Blackwell Publishing, 2005.
- VARDE, N. K.; PACK, D. W., Microspheres for controlled release drug delivery, *Expert Opin. Biol. Th.* 2004, v. 4, pp. 35-51.
- WALLE, T., Absorption and metabolism of flavonoids, *Free Radic. Biol. Méd.* 2004, v. 36, pp. 829-837.
- WANG, S.T., SCHORK, F.J., POEHLEIN, G.W., GOOCH, J.W., Emulsion and Miniemulsion copolymerization of Acrylic Monomers in the Presence of Alkyd Resin. *J. Appl. Polym. Sci.*, 1996. v. 60, pp. 2069-2076.
- WATSON, D.G., OLIVEIRA, E.J., Solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry determination of kaempferol and quercetin in human urine after consumption of *Ginkgo biloba* tablets. *J. Chromatogr. B* 1999, v.723, pp. 203–210.
- WEISS-ANGELI, V., POLETO, F.S., ZANCAN, L.R., BALDASSO, F., POHLMANN, A.R., GUTERRRES, S.S., Nanocapsules of Octyl Methoxycinnamate Containing Quercetin Delayed the Photodegradation of Both Components Under Ultraviolet A Radiation, *J. Biomed. Nanotech.*, 2008, v. 4, pp.80-89.

- WINDRUM, P., MORRIS, T.C., DRAKE, M.B., NIEDERWIESER, D., RUUTU, T., Variation in dimethyl sulfoxide use in stem cell transplantation: a survey of EBMT centres. *Bone Marrow Transplant*. 2005., v. 36, pp. 601–603.
- WU, H.; SUN, F.; DIMONIE, V.; KLEIN, A., 1998, US Patent, 5,834,526, *Chem. Abstr.* 1998, 129, 344039.
- WU, Y.; YANG, W.; WANG, C.; HU, J.; FU, S., Chitosan nanoparticles as a novel delivery system for ammonium glycyrrhizinate, *Int. J. Pharm.* 2005, v. 295, pp. 235-245.
- YUAN, Z.P., CHEN, L.J., FAN, L.Y., TANG, M.H., YANG, G.L., YANG, H.S., DU, X.B., WANG, G.Q., YAO, W.X., ZHAO, Q.M., YE, B., WANG, R., DIAO, P., ZHANG, W., WU, H.B., ZHAO, X., WEI, Y.Q., Liposomal quercetin efficiently suppresses growth of solid tumors in murine models. *Clin. Cancer. Res.* 2006, v.12, pp. 3193–3199.
- ZANETTI-RAMOS, B. G.; LEMOS-SENNA, E.; SOLDI, V.; BORSALI, R.; CLOUET, E.; CRAMAIL, H., Polyurethane Nanoparticles from a Natural Polyol via Miniemulsion Technique, *Polymer*, 2006, v. 47, pp. 8080-8087.

## ANEXO

A seguir são listados os trabalhos decorrentes desta dissertação de mestrado apresentados em congressos nacionais e publicados em periódicos internacionais :

Romio, Ana Paula; Bernardy, Neusa; Lemos-Senna, E.; Aaraújo, Pedro Henrique Hermes de; Sayer, Claudia. Polymeric Nanocapsules via Miniemulsion Polymerization using Redox Initiation. *Materials Science and Engineering: C Materials for Biological Applications*, 29, 514-518, 2009.

Bernardy, Neusa; Romio, Ana Paula; Lemos-Senna, Elenara; Araújo, Pedro Henrique Hermes; Sayer, Claudia. Comparação entre as reações de produção de nanoesferas e nanocápsulas poliméricas biocompatíveis. In: *9o Congresso Brasileiro de Polímeros*, Campina Grande. 2007. v. 1. p. 1-9.

Bernardy, Neusa; Barcelos, Erika I.; Lemos-Senna, Elenara; Araújo, Pedro Henrique Hermes de; Sayer, Claudia. Reações de polimerização em miniemulsão visando a formação de nanocápsulas biocompatíveis. Efeito do tipo de monômero. In: *XVII Congresso Brasileiro de Engenharia Química*, Recife. 2008. v. 1. p. 1-9.